

Matheus de Bastos Balbé e Gutierrez, Gustavo Fioravanti Vieira

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Departamento de Genética

Núcleo de Bioinformática do Laboratório de Imunogenética

{matheusbgutierrez@gmail.com; fioravanti@yahoo.com.br}

Introdução

O proteossomo é um sofisticado complexo proteico formado por uma partícula central com atividade proteolítica, associada a dois componentes regulatórios que reconhecem proteínas poliubiquitinadas, desdobram sua estrutura tridimensional, e as direcionam para degradação no centro catalítico. Esta via de ubiquitinação com posterior clivagem pelo proteossomo compreende o principal mecanismo de degradação de proteínas em células eucarióticas, tendo também importantes funções tanto na destruição de polipeptídeos anormais quanto no processamento e consequente apresentação de antígenos na resposta imunológica celular. É sabido que ao entrar na cavidade central proteossômica, o substrato não se encontra mais na sua estrutura tridimensional nativa. Há dúvidas, entretanto, se a cadeia polipeptídica está completamente linearizada ou ainda é capaz de manter algum nível de estruturação.

Métodos

Grupos de proteínas virais obtidos conforme descrito abaixo foram baixados da base de dados estruturais *Protein Data Bank* (www.pdb.org). Foram utilizados os programas Stride (<http://webclu.bio.wzw.tum.de/stride>), para assinalar as estruturas secundária em cada resíduo e gerar arquivos no formato *fasta*, os quais foram utilizados como entrada para o programa NetChop 3.1 (www.cbs.dtu.dk/services/netchop). Neste programa, os sítios de clivagem são preditos e anotados com uma probabilidade associada. Para as análises dos resultados somente consideramos as clivagens com uma probabilidade superior a 90%.

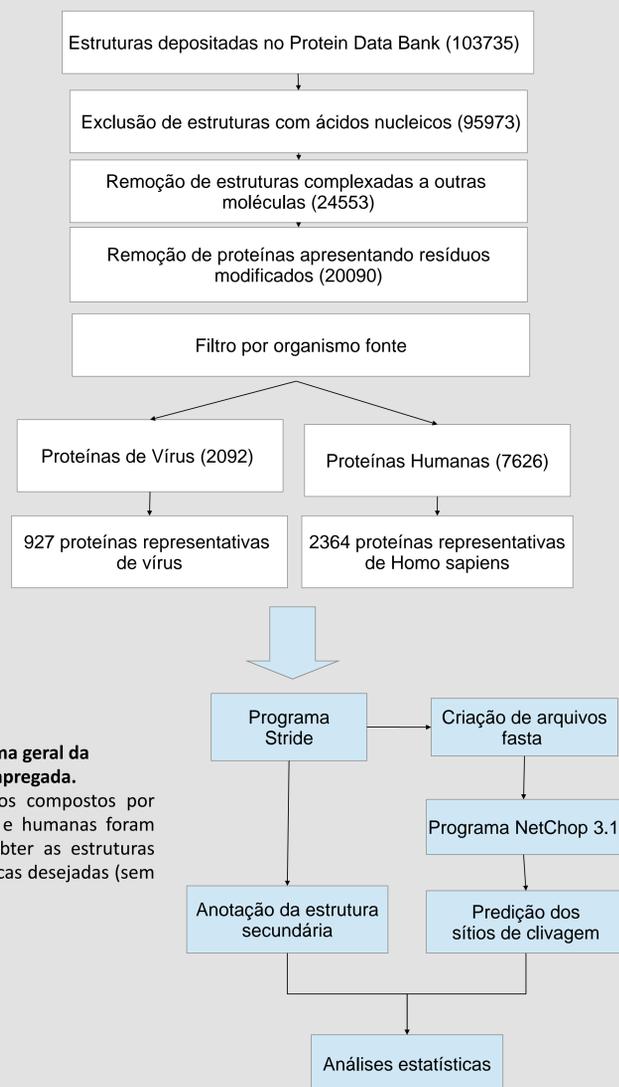


Figura 1: Esquema geral da metodologia empregada.

Grupos de dados compostos por proteínas virais e humanas foram filtrados para obter as estruturas com características desejadas (sem ligantes, p.ex.).

No momento da clivagem, admite-se que as proteínas estejam completamente linearizadas, portanto não se espera que ocorra diferenças de clivagens em algum tipo de estrutura secundária.

Resultados

Foram realizados testes qui-quadrado, onde sítios de clivagem anotados pelo NetChop constituem os dados observados, e as clivagens esperadas foram calculadas com base na proporção de resíduos em cada uma das estruturas secundárias. A tabela 1 e a figura 2 mostram que as frequências observadas e esperadas diferem estatisticamente ($p < 0.001$), com um aumento do número de clivagens previstas ocorrendo em resíduos de conformações estendidas.

Tabela 1: Dados das clivagens e das proporções dos resíduos para cada estrutura separadamente e agrupados em: *Hélice* (alfa hélice, 3-10 hélice e pi hélice), *Conformação estendida* (Isolated Bridge e Conformação estendida) e *Voltas* (Turn e Coil).

Vírus				
Estrutura secundária	Porcentagem	Clivagens esperadas	Clivagens observadas	
Alfa hélice	22,5	9885	9400	
3-10 Hélice	3	1318	1270	
Pi Hélice	0,02	10	9	
Conformação Estendida	30,1	13239	19893	
Isolated bridge	1,37	603	480	
Turn	22,9	10055	6047	
Coil	20,1	8831	6745	
Agrupando Estruturas				
Hélice	25,52	11213	10679	
Conformação Estendida	31,47	13842	20373	
Voltas	43	18886	12792	
P<0.001				
Humanos				
Estrutura secundária	Porcentagem	Clivagens esperadas	Clivagens observadas	
Alfa hélice	30,1	23051	23565	
3-10 Hélice	2,95	2257	1999	
Pi Hélice	0,01	8	3	
Conformação Estendida	24,9	19098	29338	
Isolated bridge	1,01	889	971	
Turn	22	16849	10453	
Coil	18,9	14425	10202	
Agrupando Estruturas				
Hélice	33,06	25316	25567	
Conformação Estendida	25,91	19987	30309	
Voltas	40,9	31274	20655	
P<0.001				

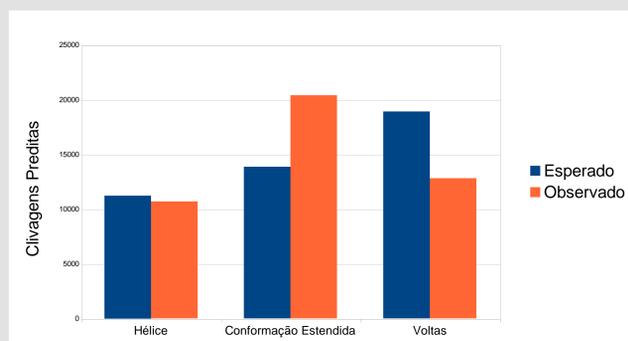


Figura 2: Diagrama da ocorrência de clivagem proteossômica por estrutura secundária em proteínas virais. É possível observar um maior número de clivagens ocorrendo em resíduos compondo estruturas em conformação estendida e uma diminuição em voltas.

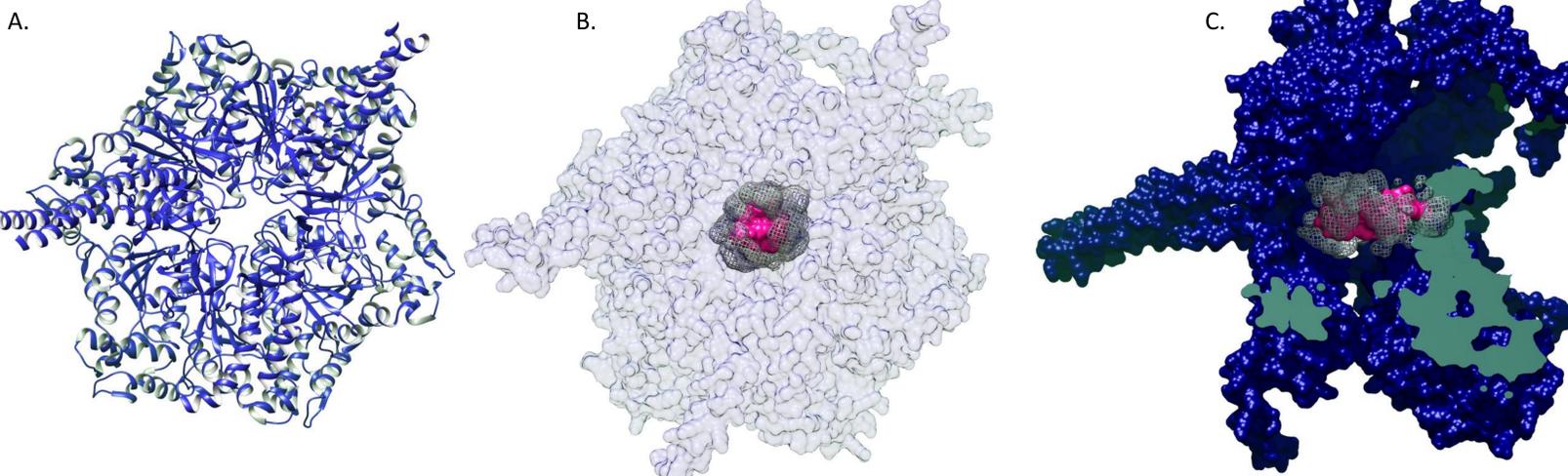


Figura 3: Resultados do docking entre ATPase proteossômica (entrada do substrato no proteossomo) e sub-região de proteína viral com estruturação de alfa hélice ((DGEDCIMHLRSLVRKMED)). A. Visualização frontal em formato ribbon. B e C. Visão frontal e lateral (em corte) da superfície molecular do receptor e ligante, enfatizando as regiões de espaçamento entre ambos (malha em cinza).