

ANALISE DO GRAU DE INTERAÇÃO NA INTERFACE DE INTERAÇÃO DE CARBOHIDRATO-LECTINA EM LECTINAS CONA-LIKE

GABRIELLE DE OLIVEIRA SANCHES VALÉRIO NAVARRO¹; FREDERICO SCHMITT KREMER²; LUCIANO DA SILVA PINTO³

¹BioProLab - Universidade Federal de Pelotas – gabi.oliveira19@hotmail.com

²BioProLab - Universidade Federal de Pelotas – fred.s.kremer@gmail.com

³BioProLab - Universidade Federal de Pelotas – ls_pinto@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

As lectinas são proteínas ou glicoproteínas de origem não imunológica que apresentam um ou mais sítios de ligação a carboidratos. Na interação da lectina com o carboidrato, há a formação de um complexo que envolve o deslocamento de moléculas de água associadas a grupos polares da proteína com a região de alta polaridade do açúcar (PIMENTA et al., 2009).

A concanavalina A (ConA), isolada de *Canavalia ensiformis*, possui afinidade pelos carboidratos D-Glicose, D-manose, D-glucose ou N-acetil-D-glucosamina (SELL, 2008). Esta propriedade lhe confere a capacidade de se ligar a carboidratos específicos presentes na superfície de células de mamíferos; aglutinar células normais e neoplásicas; estimular a mitose; a transformação blastogênica de linfócitos. Desde a sua primeira caracterização, outras lectinas similares foram descobertas. Estas, denominadas conA-like, possuem sequências e estruturas similares, com um alto grau de conservação em locais de ligação de carboidratos e íons metálicos, entretanto possuem sutis diferenças pontuais em suas sequências primárias (DELATORRE et al., 2006), e em distâncias atômicas envolvidas nas ligações de hidrogênio (ARAÚJO-FILHO et al., 2010), que se ocorrer uma única modificação na configuração de importantes aminoácidos em apenas um destes resíduos sua atividade biológica irá ser afetada (ARRUDA CAVALCANTE et al., 2013).

Devido às suas propriedades de ligação únicas a carboidratos, as lectinas tornaram-se ferramentas indispensáveis em diagnósticos de doenças, de tipagem sanguínea e de identificação de cepas de microrganismos (POVINELI; FILHO, 2002); na sequência de alterações que ocorrem na superfície celular durante os processos fisiológicos e patológicos, da diferenciação celular cancerosa (LI et al., 2011); traçando vias neuronais; digitando as células do sangue e bactérias (POVINELI; FILHO, 2002); e para o fracionamento de linfócitos e de células de medula óssea para o transplante de medula óssea (LORIS et al., 1998). Eles também são utilizados para estimular os linfócitos para avaliar o estado imunológico de pacientes e para a análise citogenética cromossoma em humanos, bem como para a produção de citosinas (SHARON; LIS, 1990).

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a conservação dos resíduos que são responsáveis pela interação lectina-carboidratos em diferentes estruturas de lectinas *ConA-like* através de análises *in silico*.

2. METODOLOGIA

A busca de sequência e estruturas de lectinas de plantas foi realizada no Protein Data Bank (PDB; <http://www.rcsb.org/pdb/>) um banco de dados

cristalográfico de estruturas tridimensionais de proteínas e ácidos nucleicos. A partir destes dados, foi realizada uma busca de similaridade pelo BLASTp(ALTSCHUL et al., 1990)através da comparação de sequências da ConA (Uniprot:P02866). Como resultado foram obtidas sequências com um grau significativo de similaridade à ConA. Após a realização do BLASTp, foi feito o alinhamento, com o programa ClustalW(THOMPSON; HIGGINS; GIBSON, 1994), um programa que realiza o alinhamento múltiplo de sequênciasque possibilita a identificação de regiões conservadas.

Com base nas estruturas que apresentavam carboidratos complexados, foi realizada a análise das interações das estruturas com os carboidratos utilizando o Protein–LigandInteractionProfiler (PLIP)(SALENTIN et al., 2015), um programa para a detecção e visualização de contatos proteína-ligante não covalentes em estruturas 3D totalmente automatizado, utilizando um *script*para a execução do das análises. Por fim foi realizado o cruzamento dos dados obtidos do alinhamento múltiplo com os do PLIP com *scripts* em linguagem python.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir das buscas realizadas a filtragem do PDB retornou ao todo 147 sequências que obedecem aos critérios de lectinas complexadas com carboidratos. Ao se realizar a busca no BLASTp por sequências ConA-like foram retornadas62 sequências.

O gráfico(Figura 01) obtido através do cruzamento dos dados do alinhamento múltiplo com os dados do PLIP, utilizando linguagem python, podemos visualizar o grau de conservação das regiões que se ligam a carboidratos, este grau foi calculado utilizando as 62 sequências. As posições no alinhamento que apresentaram uma conservação de suas respectivas pontes de hidrogênio estão indicadas na Tabela 01.

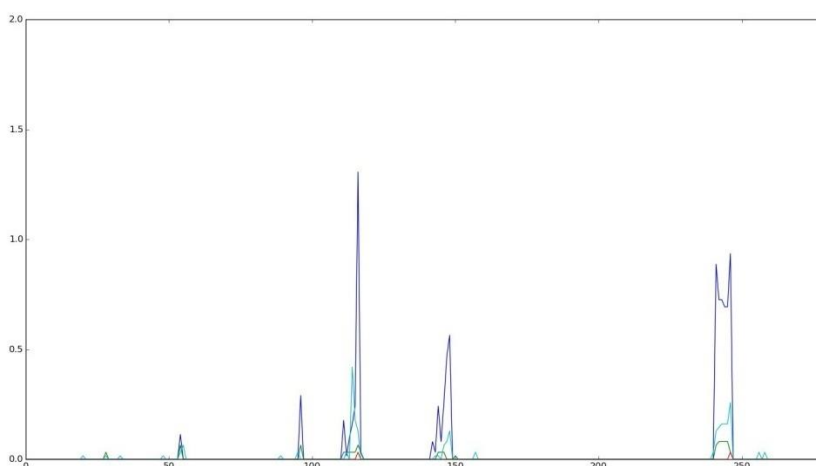


Figura 01 – Representação gráfica do grau de conservação das regiões de ligação de carboidratos.

Tabela 01 – Representação da posição do aminoácido na sequência, conservação da ponte de hidrogênio e conservação do aminoácido.

Posição do aminoácido	Conservação das Pontes de Hidrogênio	Conservação do Aminoácido
54	0.11	0,59
116	1.30	0,97
244	0.69	0,87
241	0.89	0,77
245	0.69	0,77
243	0.72	0,72
148	0.56	0,61
246	0.93	0,53
242	0.72	0,5

A partir das análises e do cruzamento dos dados demonstrou-se que as lectinas possuem em sua sequência um alto grau de conservação, tanto nas pontes de Hidrogênio como nos aminoácidos, revelando sutis diferenças em sua sequência primária. O alto teor de conservação é visto nas regiões que realizam interações com carboidratos, como relatado por (SHARON; LIS, 1990) que demonstram que os sítios de ligações de carboidratos e íons metálicos possuem posições similares em diferentes lectinas e ocorre apenas a substituição de alguns aminoácidos como, por exemplo, onde na ConA Leu-99 e Arg-228 e Ala-212 e Gly-100 na flavina, que acarreta uma mudança na conformação dos sítios de ligação ao carboidrato.

As diferenças notadas nas estruturas, são referentes a alguns aminoácidos que normalmente são encontrados na ConA/ConA-like e raramente são encontrados em outras lectinas como, por exemplo, o aminoácido Arg228 encontrado na ConA que em outras lectinas é substituído por uma Glicina, como demonstrado por Loris et al. (1998).

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que as regiões que possuem interações com carboidratos são altamente conservadas entre lectinas *ConA-like*, essa conservação é observada tanto na sequência de aminoácidos quanto nas ligações de pontes de hidrogênio. E o que pode ocorrer é a substituição de alguns aminoácidos que modificam a conformação espacial dos sítios de ligação a carboidratos, tornando-os mais específicos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

PIMENTA, M. G. R.; FURTADO, R. F.; CARVALHO, J. B. de; SILVA, V. P. A. da; GUEDES, M. I. F.; DUTRA, R. F.; ALVES, C. R. Estudo da interação lectinas-carboidrato utilizando eletrodo convencional e ultramicroeletrodo. In: **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 32, Fortaleza, 2009.

ALTSCHUL, S. F. et al. Basic local alignment search tool. **Journal of molecular biology**, v. 215, n. 3, p. 403–10, 5 out. 1990.

ARAÚJO-FILHO, J. H. et al. A ConA-like lectin from *Dioclea guianensis* Benth. has antifungal activity against *Colletotrichum gloeosporioides*, unlike its homologues,

ConM and ConA. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 7, p. 4090–6, 14 abr. 2010.

ARRUDA CAVALCANTE, T. T. et al. A ConA-like lectin isolated from *Canavalia maritima* seeds alters the expression of genes related to virulence and biofilm formation in *Streptococcus mutans*. **Advances in Bioscience and Biotechnology**, v. 04, n. 12, p. 1073–7078, 23 dez. 2013.

DELATORRE, P. et al. Crystal structure of a lectin from *Canavalia maritima* (ConM) in complex with trehalose and maltose reveals relevant mutation in ConA-like lectins. **Journal of structural biology**, v. 154, n. 3, p. 280–6, jun. 2006.

LI, W. et al. Concanavalin A: a potential anti-neoplastic agent targeting apoptosis, autophagy and anti-angiogenesis for cancer therapeutics. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 414, n. 2, p. 282–6, 22 out. 2011.

LORIS, R. et al. Legume lectin structure. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1383, n. 1, p. 9–36, 3 mar. 1998.

POVINELI, K. L.; FILHO, F. F. As múltiplas funções das lectinas vegetais. **As múltiplas funções das lectinas vegetais**, v. 24, n. único, p. 135–156, 2 jul. 2002.

SALENTIN, S. et al. PLIP: fully automated protein–ligand interaction profiler. **Nucleic Acids Research**, v. 43, n. W1, p. W443–W447, 1 jul. 2015.

SELL, A. M. Atividades biológicas das lectinas PHA, WGA, jacalina e artocarpina *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 9 maio 2008. Disponível em: <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/view/2829>>. Acesso em: 2 jul. 2015

SHARON, N.; LIS, H. Legume lectins--a large family of homologous proteins. **FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 4, n. 14, p. 3198–208, nov. 1990.

THOMPSON, J. D.; HIGGINS, D. G.; GIBSON, T. J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic acids research**, v. 22, n. 22, p. 4673–80, 11 nov. 1994.