



EXPLORANDO O MECANISMO DE DEGRADAÇÃO ENZIMÁTICA DO POLIURETANO (PU) POR MEIO DAS POLIURETANASES ESTERASES A E B (PUEA E PUEB): UMA ABORDAGEM INTEGRADA DE DOCKING, DINÂMICA MOLECULAR (MD) E QM/MM

Thiago Antonio Valdez Garcia^{a,*}, José Fernando Ruggiero Bachega^{b,c} e Paulo Augusto Netz^{a,*}

^aDepartamento de Físico-Química, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 91501-970 Porto Alegre – RS, Brasil

^bDepartamento de Farmacociências, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, 90050-170 Porto Alegre – RS, Brasil

^cPrograma de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 90650-001 Porto Alegre – RS, Brasil

Recebido: 06/08/2024; aceito: 04/09/2024; publicado online: 08/10/2024

*e-mail: quimthiogarcia@gmail.com; netz@iq.ufrgs.br

Apresenta-se de forma detalhada os três mecanismos: PueA, PueB e PU-MDI livre, respectivamente, nas Figuras 1S, 2S e 3S.

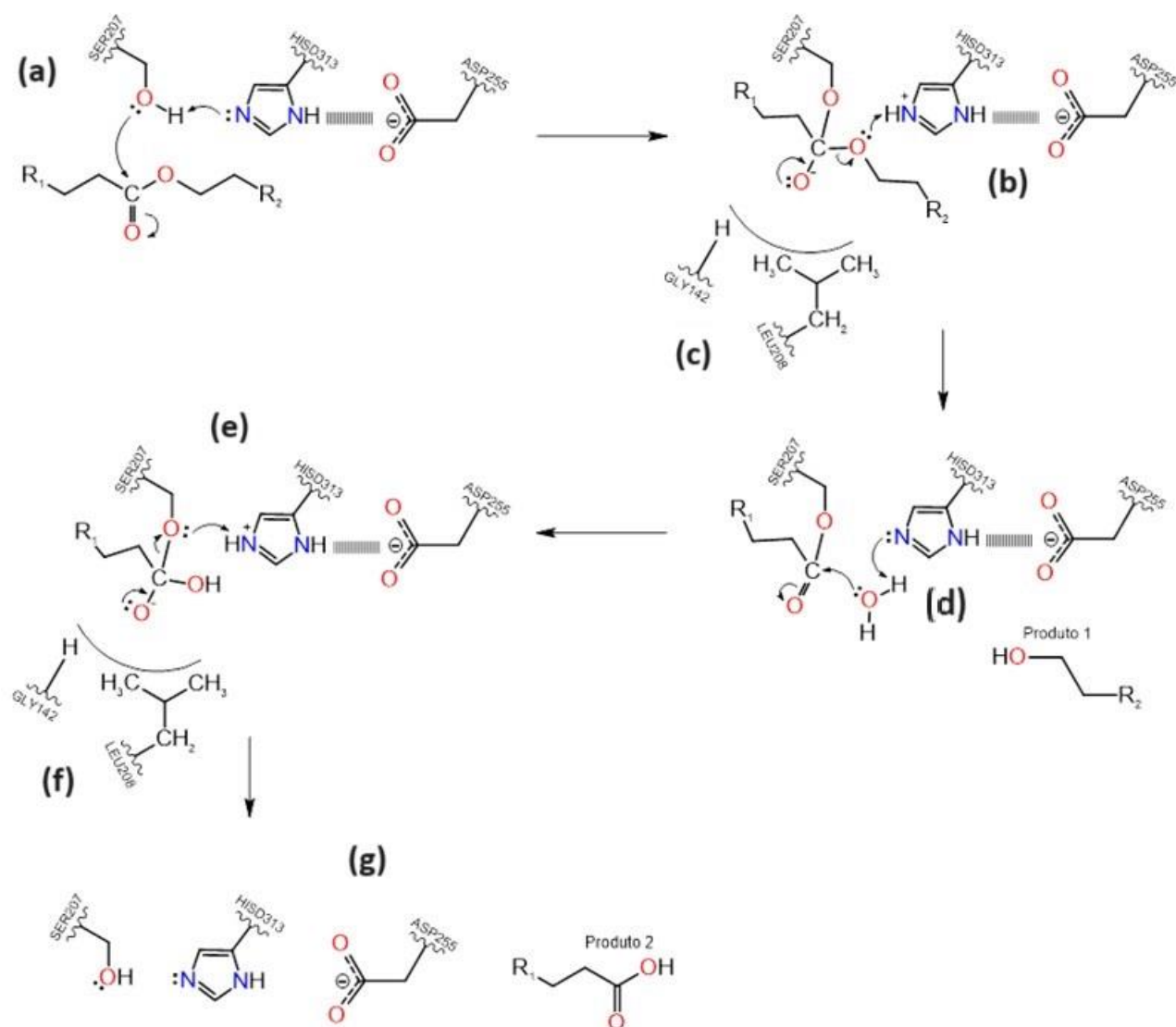


Figura 1S. Mecanismo da reação de hidrólise catalisada pela PueA. (a) Ataque nucleofílico da serina; (b) primeiro intermediário tetraédrico; (c) região oxiânion; (d) ataque nucleofílico da água; (e) segundo intermediário tetraédrico; (f) região oxiânion e (g) regeneração da serina

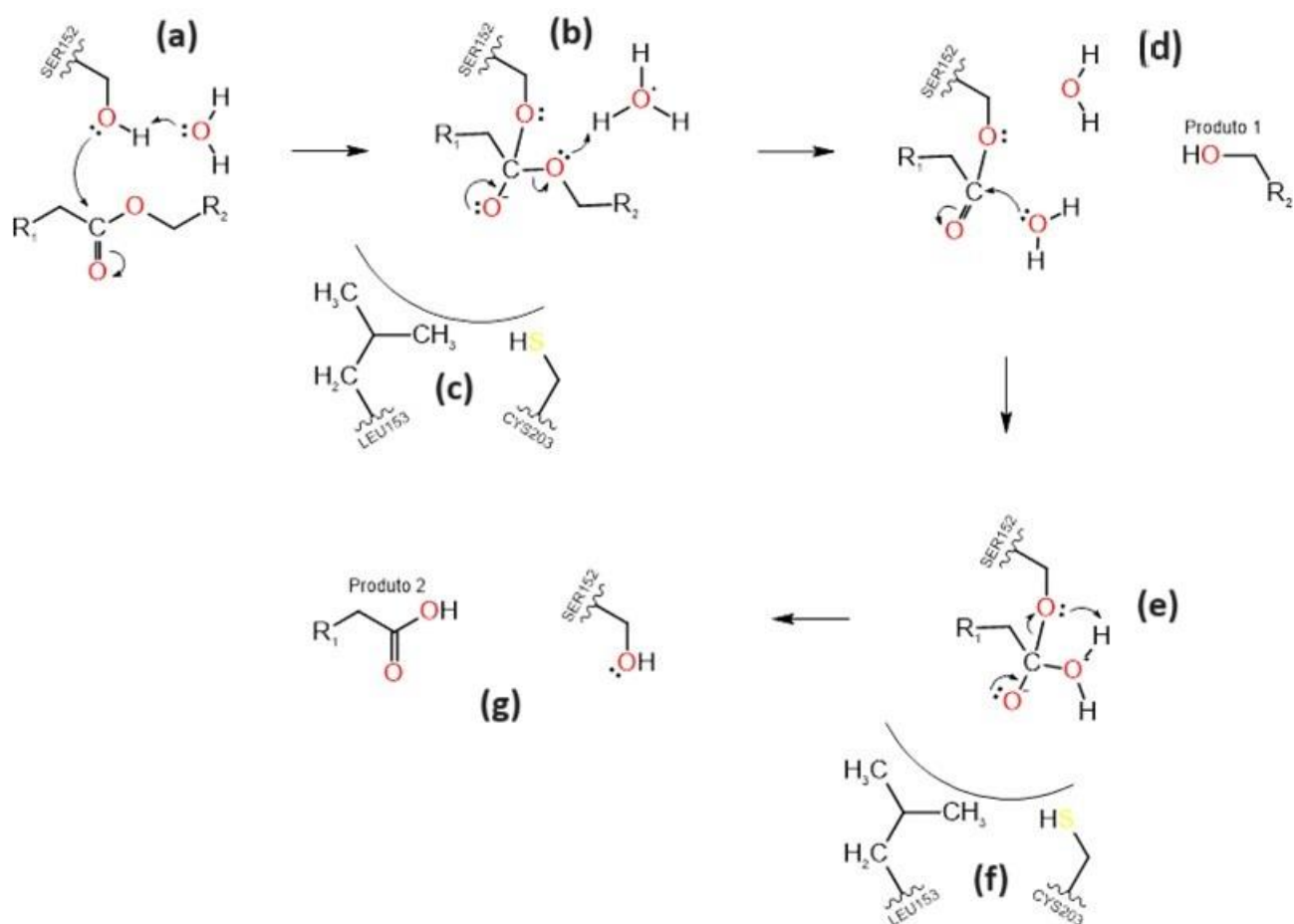


Figura 2S. Mecanismo de reação da hidrólise catalisada pela PueB. (a) Ataque nucleofílico da serina; (b) formação do intermediário tetraédrico; (c) região oxianion; (d) ataque nucleofílico da água; (e) segundo intermediário tetraédrico; (f) região oxianion e (g) regeneração da serina

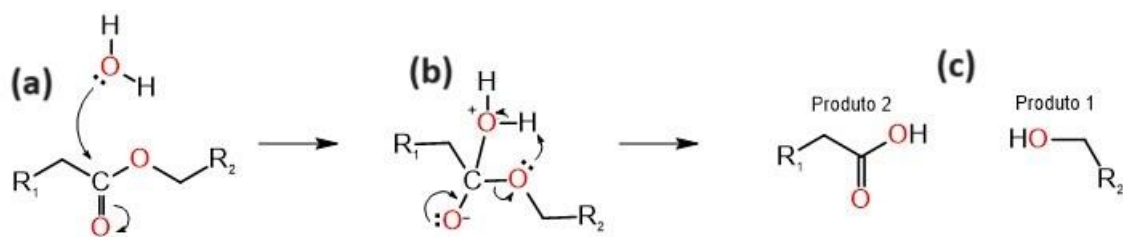


Figura 3S. Mecanismo de hidrólise sem catalisador. (a) Ataque nucleofílico da água; (b) intermediário tetraédrico e (c) formação dos produtos

A flexibilidade dos complexos foi analisada por meio do gráfico da raiz quadrada da flutuação quadrática média (RMSF, do inglês, *root mean square fluctuation*) e pode ser observada na Figura 4S. Desse modo, notou-se que a mobilidade da maioria dos resíduos, em ambas enzimas, ficou abaixo de 0,4 nm, entretanto, alguns resíduos, passaram de 0,6 nm.

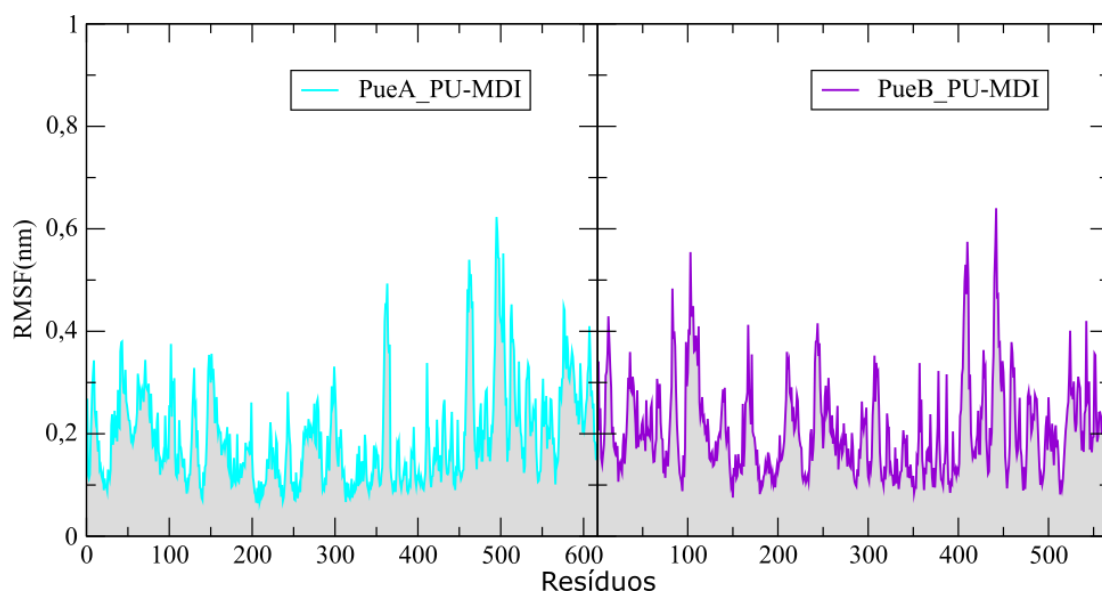


Figura 4S. Gráfico da RMSF dos complexos

Já as interações entre as enzimas e o PU-MDI foram mapeadas por meio das ligações de hidrogênio HB (do inglês, *hydrogen bonds*) conforme apresentado na Figura 5S. Logo, constatou-se que a PueA manteve ao longo da dinâmica molecular (MD) em média, aproximadamente, duas ligações de hidrogênio enquanto que a PueB demonstrou, em média, um aumento de ligações de hidrogênio após 300 ns de simulação. Ou seja, ambas as esterases interagiram de forma semelhante com o PU-MDI ao longo de toda MD.

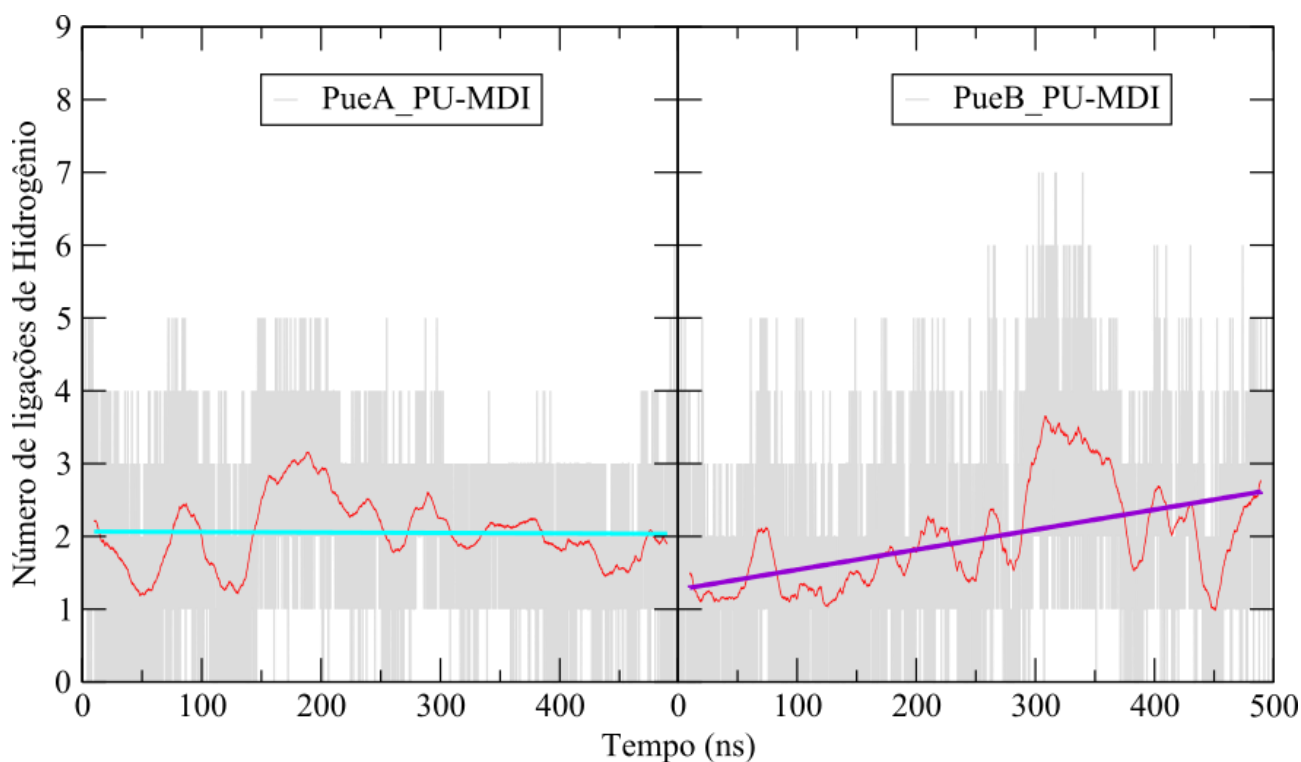


Figura 5S. Número de ligações de hidrogênio entre ligante e proteína ao longo da MD

Tabela 1S. Cargas parciais dos átomos relevantes no mecanismo da PueA

Resíduo	Átomo	Acilação			Desacilação	
		ES	TS1	AE	TS2	E + P
		Cargas parciais				
SER207	OG	−0,60	−0,64	0,46	−0,67	−0,58
ASP255	OD1	−0,70	−0,76	−0,69	−0,76	−0,69
	OD2	−0,65	−0,77	−0,64	−0,77	−0,64
HISD313	ND1	−0,20	−0,11	−0,20	−0,11	−0,19
	NE2	−0,38	−0,20	−0,36	−0,17	−0,39
PU−MDI	C30	0,66	0,77	0,68	0,78	0,67
	O31	−0,56	−0,82	−0,57	−0,81	−0,58
	O32	−0,48	−0,62	−0,61	−0,61	−0,58
H ₂ O	OW	−0,63	−0,62	−0,63	−0,69	−0,55
	HW1	0,32	0,32	0,32	0,38	0,35
	HW2	0,31	0,31	0,32	0,66	0,36

PueA: poliuretanase esterase A; ES: enzima-substrato; TS1: estado de transição 1; TS2: estado de transição 2; acil-enzima (AE); E + P: enzima e produto.

Tabela 2S. Cargas parciais dos átomos relevantes no mecanismo da PueB

Resíduo	Átomo	Acilação			Desacilação	
		ES	TS1	AE	TS2	E + P
		Cargas parciais				
SER152	OG	−0,59	−0,47	−0,45	−0,62	−0,57
PU-MDI	O15	−0,47	−0,61	−0,60	−0,59	−0,58
	C16	0,65	0,68	0,64	0,70	0,65
	O17	−0,57	−0,52	−0,51	−0,61	0,52
H ₂ O (1ª etapa)	OW	−0,63	−0,62	−0,62	−0,63	−0,61
	HW1	0,32	0,33	0,33	0,32	0,33
	HW2	0,32	0,31	0,31	0,32	0,31
H ₂ O (2ª etapa)	OW	−0,64	−0,62	−0,62	−0,46	−0,54
	HW1	0,31	0,31	0,31	0,33	0,34
	HW2	0,32	0,31	0,31	0,37	0,32

PueB: poliuretanase esterase B; ES: enzima-substrato; TS1: estado de transição 1; TS2: estado de transição 2; acil-enzima (AE); E + P: enzima e produto.

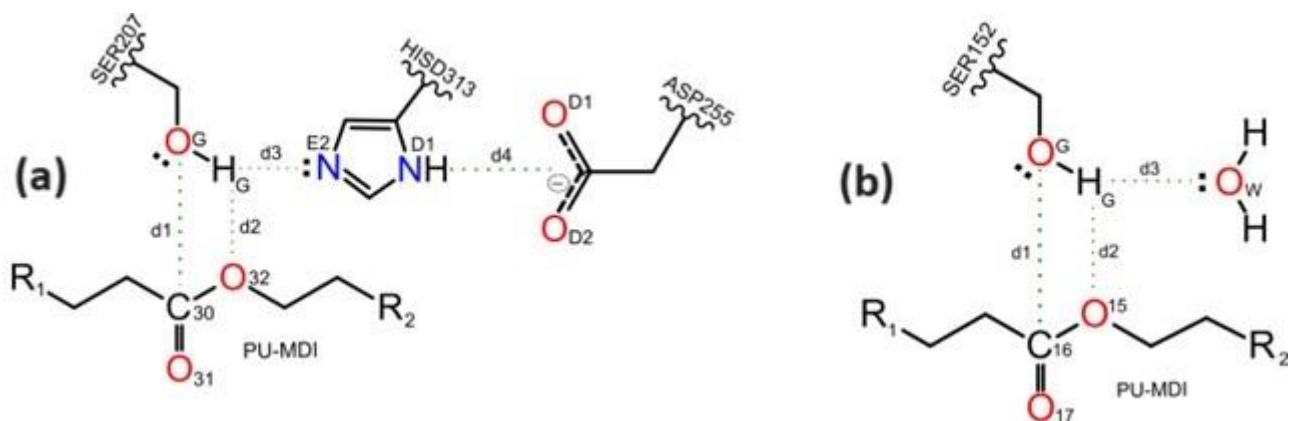


Figura 6S. Representação da nomenclatura dos átomos na etapa de acilação em (a) *PueA* e em (b) *PueB*

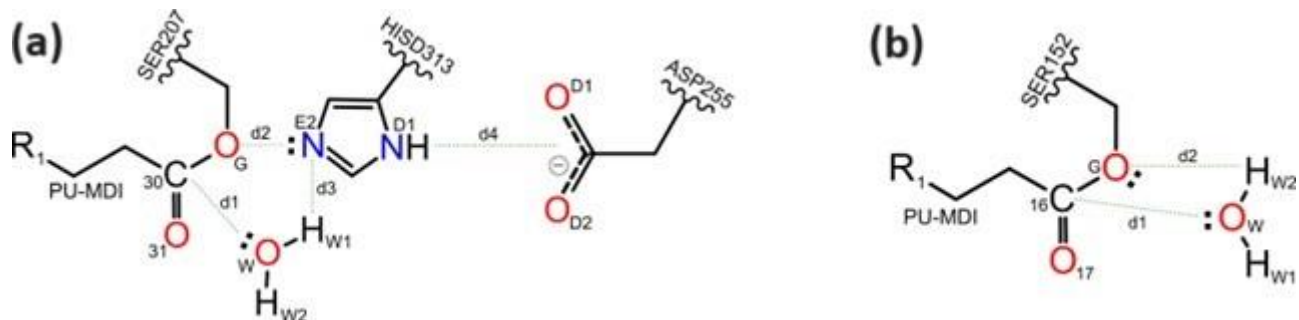


Figura 7S. Representação da nomenclatura dos átomos na etapa de desacilação em (a) *PueA* e em (b) *PueB*

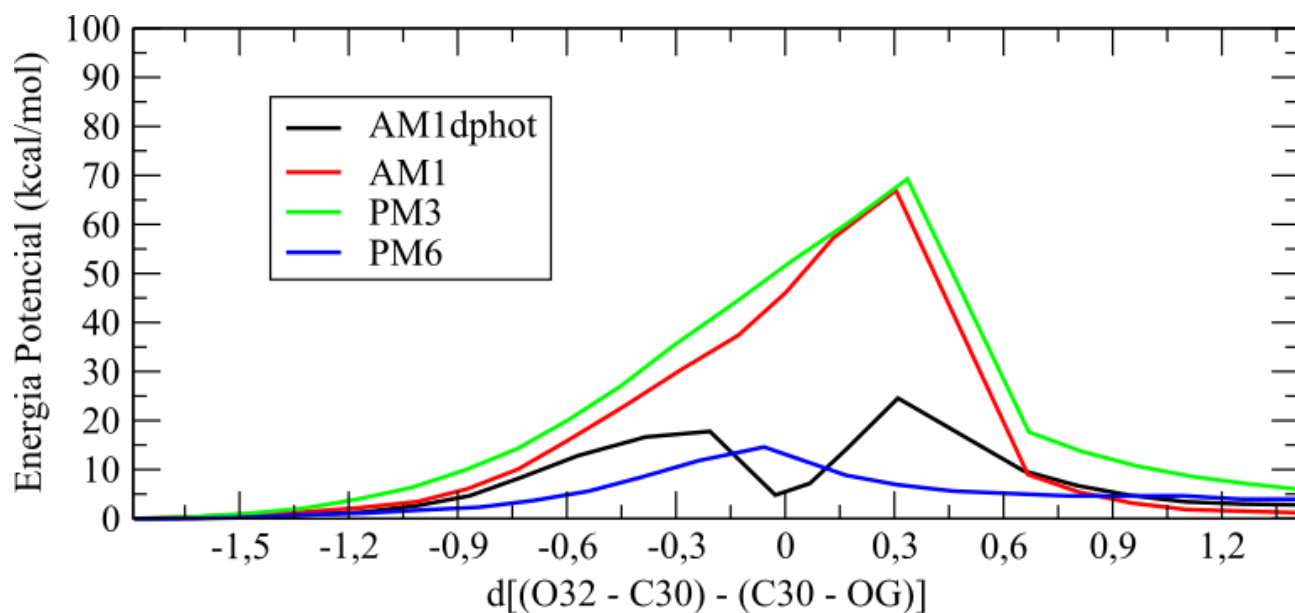


Figura 8S. Gráfico da energia potencial para romper a ligação química entre os átomos O32 e C30 do PU-MDI do complexo *PueA* usando os métodos semi-empíricos, AM1, AM1dphot, PM3 e PM6

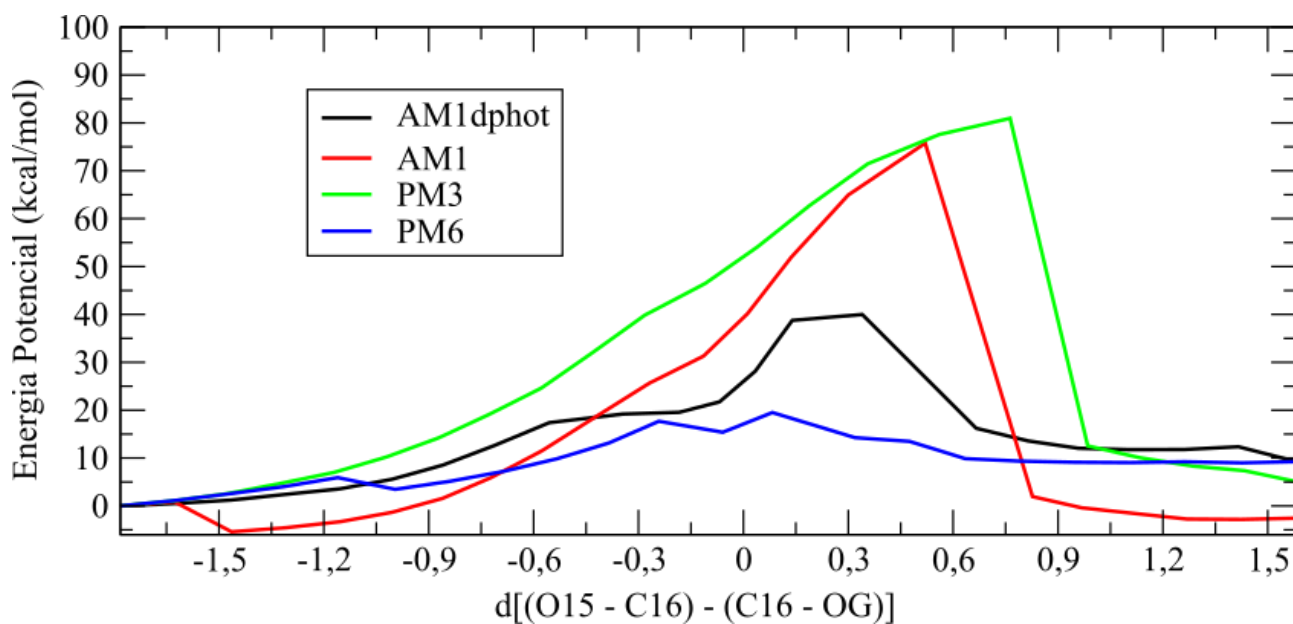


Figura 9S. Gráfico da energia potencial para romper a ligação química entre os átomos O15 e C16 do PU-MDI do complexo PueB usando os métodos semi-empíricos, AM1, AM1dphot, PM3 e PM6

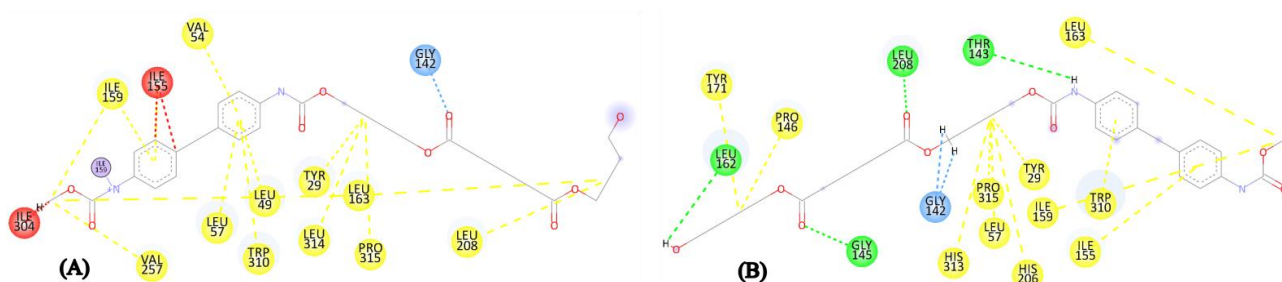


Figura 10S. Comparação das interações entre os resíduos da PueA e o PU-MDI. Em (A) mostra-se as interações do docking e em (B) as interações do snapshot selecionado da MD para realização do QM/MM. Azul representa as ligações de hidrogênio não clássicas, em verde as ligações de hidrogênio clássicas, em vermelho as interações desfavoráveis, em roxo uma ligação covalente e em amarelo as interações hidrofóbicas (nota: as ligações entre os resíduos e o ligante são mostradas de modo esquemático nesta representação, não correspondendo ao tamanho comparativo das ligações)

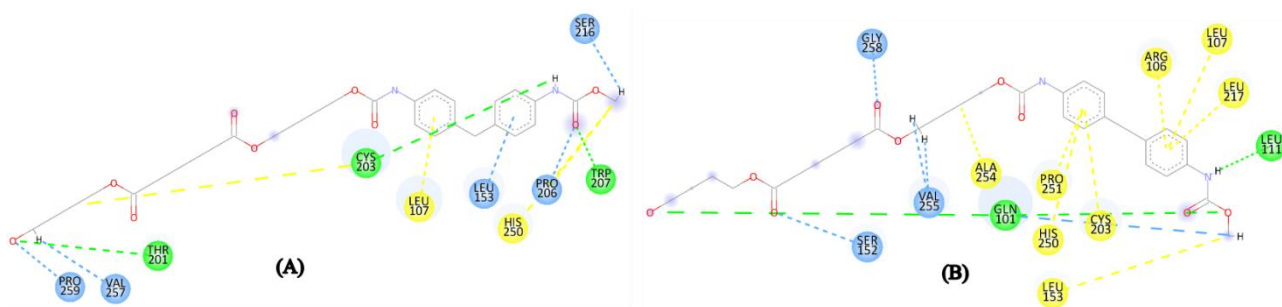


Figura 11S. Comparação das interações entre os resíduos da PueB e o PU-MDI. Em (A) mostra-se as interações do docking e em (B) as interações do snapshot selecionado da MD para realização do QM/MM. Azul representa as ligações de hidrogênio não clássicas, em verde as ligações de hidrogênio clássicas e em amarelo as interações hidrofóbicas (nota: as ligações entre os resíduos e o ligante são mostradas de modo esquemático nesta representação, não correspondendo ao tamanho comparativo das ligações)