



Interação entre as proteínas do soro de leite e as proteínas do glúten de milho e, destas com a luteína: uma abordagem por *docking* molecular

Palavras-Chave: *docking* molecular; proteínas do soro de leite; zeínas.

Autores/as:

Gabriel Grudin Noceti Rosini Silva [FEA/UNICAMP]

Alane Cangani Alves [FEA/UNICAMP]

Prof. Dr. Guilherme M. Tavares [FEA/UNICAMP]

INTRODUÇÃO:

As proteínas são macronutrientes indispensáveis para o fornecimento de aminoácidos, os quais são essenciais para a manutenção da vida. Além disso, as proteínas também atuam como importantes agentes tecnológicos, podendo atuar na formação de géis, espumas e emulsões, bem como na encapsulação e proteção de compostos bioativos (Li-Chan & Lacroix, 2018; Lv, Zhao & Ning, 2017). As proteínas de origem animal, como as do soro do leite são altamente empregadas na formulação de produtos pelas indústrias de alimentos, entretanto, o seu consumo excessivo tem sido associado a uma maior emissão de gases de efeito estufa e a uma maior pressão nos recursos naturais, comparativamente às proteínas de origem vegetal (FAO, 2011). Nesse sentido, a combinação de proteínas de origem animal e proteínas de origem vegetal em sido apontada como uma alternativa viável na formulação de produtos com melhores aspectos de sustentabilidade sem alterar suas funcionalidades (Alves & Tavares, 2019). No entanto, o conhecimento a cerca de estrutura e propriedades de grande parte das proteínas de origem vegetal, apontadas como emergentes, ainda é limitado. Este é o caso, por exemplo, das proteínas do glúten de milho comercial.

Para a prospecção do potencial tecnológico destas proteínas emergentes, inicialmente testes exploratórios são realizados em laboratório. No entanto, na realização destes testes, sempre há um custo com reagentes, além da geração dos resíduos das análises. Dessa forma, técnicas recentes oriundas da bioinformática e altamente aplicadas no desenvolvimento de produtos farmacêuticos, como o *molecular docking*, têm apresentado alta aplicabilidade na ciência de alimentos, por promover uma redução de custos e uma boa predição de mecanismos de interação envolvendo proteínas e também compostos bioativos presentes em matrizes complexas, como os alimentos (Tao *et al.*, 2019).

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi estudar os mecanismos de interação molecular entre as proteínas do soro de leite as proteínas do glúten de milho, bem como destas últimas com a luteína (um carotenoide bioativo) por meio de *docking* molecular.

METODOLOGIA:

Para a realização das simulações, a estrutura 3D da beta-lactoglobulina (3NPO), a proteína majoritária do soro de leite foi recuperada na base de dados PDB (*Protein Data Bank*). A estrutura 3D mais provável das principais proteínas presente no glúten de milho comercial (GMC), alfa-zeína (P04700) e beta-zeína (P06673), e da segunda proteína mais abundante do soro de leite, alfa-lactoalbumina (P00711), foram obtidas por simulação no servidor I-TASSER alimentado com suas sequências de aminoácidos (AA), arquivo FASTA (YANG & ZHANG, 2015; ZHANG *et al.*, 2017). Com os arquivos *.pdb* disponíveis para as proteínas, procedeu-se para a simulação de interação entre as proteínas do GMC e do soro de leite no servidor pyDockWEB, o qual permite selecionar uma proteína receptora, de maior diâmetro molecular, e uma proteína ligante, de menor tamanho, e realizar o *docking* molecular (JIMENEZ-GARCIA, PONS & FERNANDEZ-RECIO, 2013).

Em complemento, também explorou-se a interação das proteínas do GMC, alfa-zeína e beta-zeína, com a luteína por meio da combinação dos programas *AutoDockTools* e *AutoDockVina*. O primeiro *software* foi utilizado com um caráter preparatório das amostras, envolvendo a retirada de água, adição de hidrogênios polares e formação do *grid* de interação, entre outros ajustes, enquanto o segundo foi utilizado com um caráter analítico, envolvendo o algoritmo de busca e seleção baseado na afinidade dos compostos e, portanto, na energia de interação. Por fim, com o arquivo *output* gerado, utilizou-se o *Pymol* para visualização da imagem tridimensional obtida pelas simulações (TROTT & OLSON, 2010; MORRIS *et al.*, 2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

- **ESTRUTURA PROTEICA:** A confiança dos modelos obtidos para a estrutura 3D das proteínas a partir de sua sequência de AA é quantitativamente mensurada pelo *C-score*, um indicador baseado na convergência e alinhamento dos parâmetros gerados nas simulações. A pontuação dada está, normalmente, entre -5 e 2, onde quanto maior o valor, mais confiável o modelo (JIMENEZ-GARCIA, PONS & FERNANDEZ-RECIO, 2013). A Figura 1 apresenta os modelos mais confiáveis obtidos para a alfa-zeína, a beta-zeína e a alfa-lactoalbumina.

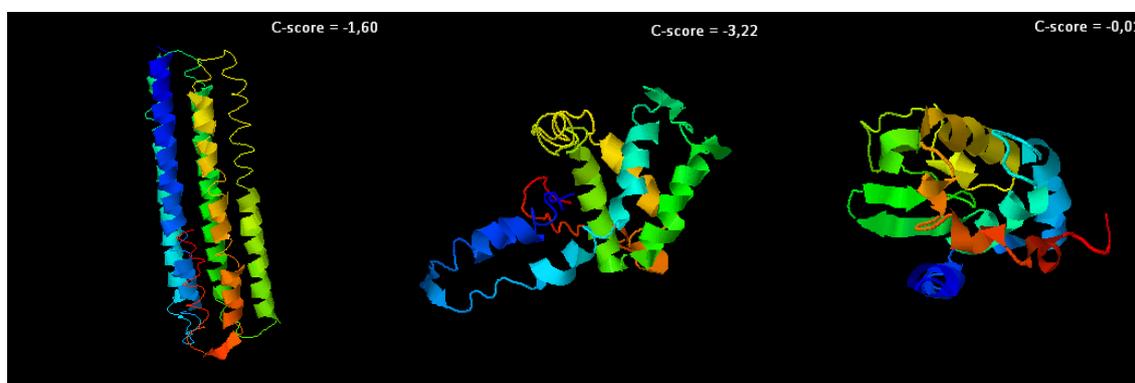


Figura 1. Predição da estrutura da alfa-zeína, beta-zeína e alfa-lactoalbumina (da esquerda para a direita).

- **INTERAÇÃO PROTEÍNA x PROTEÍNA:** A predição da interação entre as principais proteínas do GMC e as principais proteínas do soro de leite realizadas através do pyDockWEB gerou dez modelos para cada uma das simulações realizadas (Figuras 2 e 3). O servidor de *docking* molecular avalia e ranqueia as simulações de acordo com um modelo que leva em conta as contribuições referentes aos fenômenos de interação eletrostática e de dessolvatação e em menor parcela as forças de van der Waals (JIMENEZ-GARCIA, PONS & FERNANDEZ-RECIO, 2013). Entre os modelos avaliados pelo programa: alfa-zeína e beta-lactoglobulina (1); beta-zeína e beta-lactoglobulina (2); alfa-zeína e alfa-lactoalbumina (3); beta-zeína e alfa-lactoalbumina (4), as maiores afinidades apontadas pelas simulações foram entre as proteínas presentes no GMC (alfa-zeína e beta-zeína) e a alfa-lactoalbumina.

Em relação aos potenciais sítios de interação mais prováveis, notou-se uma preferência de interação entre a alfa-zeína e as proteínas presentes no soro do leite em uma mesma região para todos os modelos gerados. Por outro lado, observou-se uma localização mais dispersa (maior número de configurações) para a interação entre as proteínas do soro do leite e a beta-zeína, possivelmente em razão da menor confiabilidade, ou seja, baixo *C-score*, da estrutura 3D simulada pelo I-TASSER.

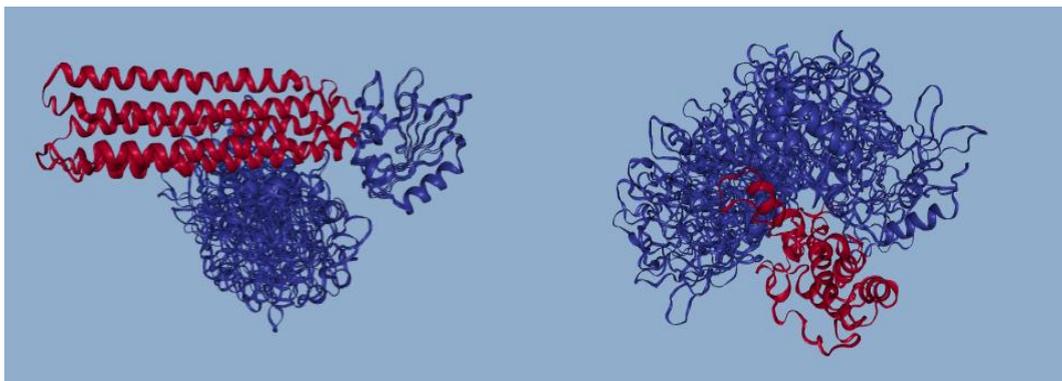


Figura 2. Os 10 modelos mais prováveis de interação entre a alfa-zeína e a beta-lactoglobulina (esquerda) e entre a beta-zeína e beta-lactoglobulina (direita).

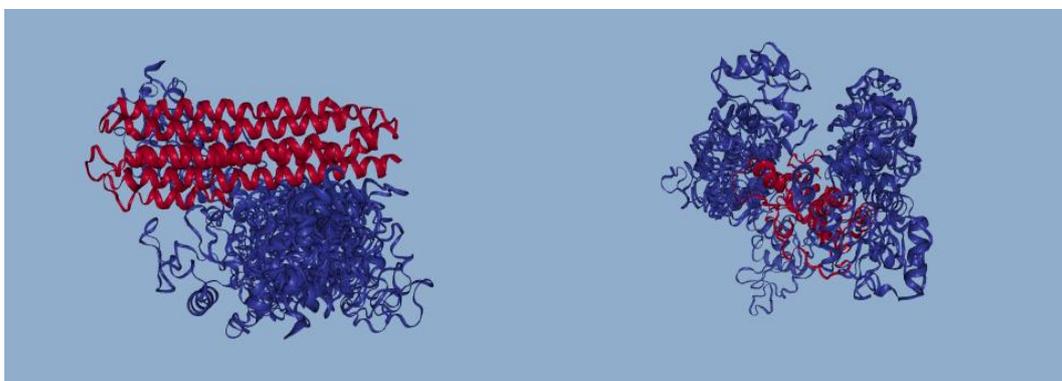


Figura 3. Os 10 modelos mais prováveis de interação entre a alfa-zeína e a alfa-lactoalbumina (esquerda) e entre a beta-zeína e alfa-lactoalbumina (direita).

- **INTERAÇÃO PROTEÍNAS DO CMG x LUTEÍNA:** A partir da realização do *docking* molecular entre as proteínas do GMC e a luteína foram obtidos os modelos apresentados nas Figuras 4 e 5.

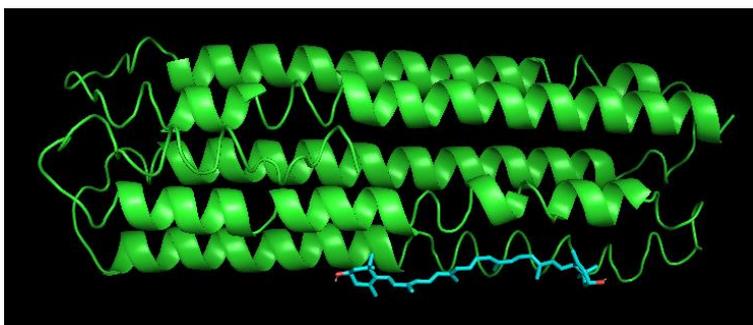


Figura 4. Interação mais provável entre a alfa-zeína e a luteína. Visualização utilizando o *Pymol*.

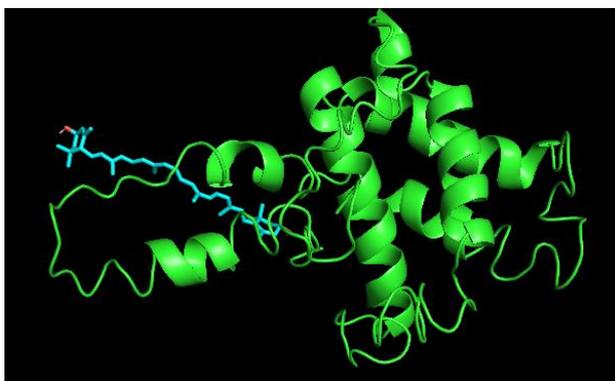


Figura 5. Interação mais provável em a beta-zeína e a luteína. Visualização utilizando o *Pymol*.

Os modelos apresentados nas Figuras 4 e 5 representam as simulações com maior afinidade, uma vez que para cada par de moléculas obteve-se a afinidade e a estrutura dos nove melhores modelos. As afinidades relacionadas aos 5 principais modelos gerados em cada simulação estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Afinidade da ligação calculada para os modelos simulados de *docking* molecular entre a luteína e as principais proteínas do GMC.

Modelo	Afinidade (kcal/mol)	
	Alfa-zeína e luteína	Beta-zeína e luteína
1	-6,9	-7,1
2	-6,8	-6,9
3	-6,7	-6,8
4	-6,6	-6,5
5	-6,5	-6,0

Os resultados obtidos mediante a execução do algoritmo atendem a uma função de pontuação que leva em consideração, sobretudo, as contribuições originadas de interações moleculares não covalentes e de restrições estéricas (TROTT *et al.*, 2010). A seleção dos modelos com maior afinidade através de simulações

com um bom grau de confiabilidade pode gerar indícios de que a proteína em questão apresenta, por exemplo, potencial para ser aplicada na encapsulação do referido compostos bioativo.

CONCLUSÃO:

A simulação da interação entre proteínas e entre proteínas e moléculas de menor massa molecular através de técnicas computacionais como o *docking* molecular apresenta um grande potencial para a ciência de alimentos, especialmente, quando aplicada como análise preliminar na triagem de condições mais favoráveis para validação experimental em laboratório utilizando técnicas mais complexas.

BIBLIOGRAFIA

Alves, A. C., & Tavares, G. M. (2019). "Mixing Animal and Plant Proteins: Is this a Way to Improve Protein Techno-Functionalities?" *Food Hydrocolloids* 97: 105171. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.06.016>.

Zhang C., Freddolino PL, Zhang Y. (2017) COFACTOR: improved protein function prediction by combining structure, sequence and protein–protein interaction information. *Nucleic Acids Research*, 45: W291-W299, 2017.

FAO. (2011). *Animal Production and Health Working Paper. No. 2 Mapping Supply and Demand for Animal-Source Foods to 2030*. Animal Production and Health Working Paper.

Jimenez-Garcia B., Pons C. and Fernandez-Recio J. "pyDockWEB: a web server for rigid-body protein-protein docking using electrostatics and desolvation scoring". *Bioinformatics* (2013) 29(13):1698-1699.

Yang J, Zhang Y. I-TASSER server: new development for protein structure and function predictions, *Nucleic Acids Research*, 43: W174-W181, 2015.

Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S. and Olson, A. J. (2009) Autodock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. *J. Computational Chemistry* 2009, 16: 2785-91

Li-Chan, E.C.Y., and I.M.E. Lacroix. (2018). "Properties of Proteins in Food Systems: An Introduction." In *Proteins in Food Processing*, Elsevier, 1–25. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/C20150016203>.

Liu, Xiao Lan et al. (2020). "Preparation and Evaluation of New Glycopeptides Obtained by Proteolysis from Corn Gluten Meal Followed by Transglutaminase-Induced Glycosylation with Glucosamine." *Foods* 9(5): 555. <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/5/555>.

Trott O., Olson A. J. (2010), AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading, *Journal of Computational Chemistry* 31 455-461

Tao, X., Huang, Y., Wang, C., Chen, F., Yang, L., Ling, L., Che, Z. and Chen, X. (2019), Recent developments in molecular docking technology applied in food science: a review. *Int J Food Sci Technol*, 55: 33-45. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14325>