



BioISI - Biosystems & Integrative Sciences Institute

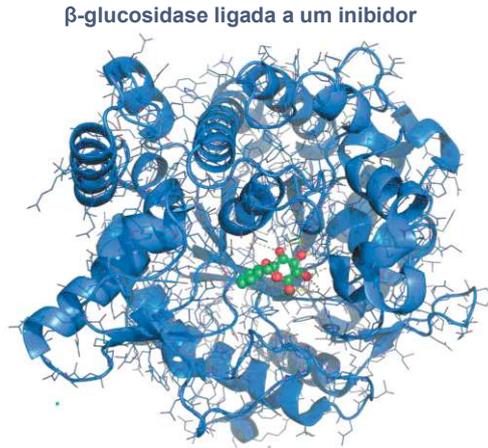
Estudo computacional do efeito do pH na actividade catalítica da β -glucosidase

Place of work/: **BioISI & DQB-FCUL (C8, 8.5.50D)**

Supervisors: Miguel Machuqueiro

Contact: (Email): machuque@ciencias.ulisboa.pt

A degradação de celulose em glucose é um passo essencial no ciclo do carbono no ecossistema terrestre, tendo também muito importância nas tecnologias de produção de biocombustível. O passo limitante deste processo é o da conversão de celobiose em duas moléculas de glucose, catalisado pela β -glucosidase (β G). A actividade destas enzimas é muito sensível ao pH do meio [1], sendo que os detalhes moleculares desta dependência ainda não são bem conhecidos. A acção catalítica é iniciada por ligações de hidrogénio entre oxigénios do substrato e os resíduos de ácido glutâmico que actuam como agentes ácido/base e nucleofílicos. Também o estudo do efeito do pH na estabilização/disrupção desta rede de pontes de hidrogénio ainda não está totalmente esclarecido [2]. As técnicas de dinâmica molecular a pH constante (CpHMD) [3] são muito apropriadas para estudar os equilíbrios ácido base no centro activo da β G, mesmo na presença do substrato, estado de transição ou produto. Para eliminarmos as barreiras cinéticas a que os ligandos estão sujeitos e a questão entrópica do acesso ao túnel catalítico, propomos o acoplamento da técnica de umbrella sampling com o CpHMD (US-CpHMD). Assim, serão efectuadas várias tarefas durante o período do plano de trabalhos:



1- Simulações de CpHMD da β G livre e na presença de substrato, estado de transição e produto.

2- Estudo com US-CpHMD dos perfis de protonação dos resíduos da fenda catalítica da proteína no processo de ligação do substrato e libertação do produto.

3- Análise conformacional detalhada do sítio activo da β G nos diferentes passos da reacção de modo a compreender os detalhes moleculares de todo o processo.

4- Compilar os resultados numa tese, usando a mesma informação para também escrever um artigo científico a publicar em revista internacional.

[1] Jeng, W.-Y., Wang, N.-C., Lin, M.-H., Lin, C.-T., Liaw, Y.-C., Chang, W.-J., Liu, C.-I., Liang, P.-H., Wang, A.H.-J. (2011) J. Struct. Biol. 173, 46-56. [2] Flannelly, D. F., Aoki, T. G., Aristilde, L. (2015) J. Struct. Biol. 191, 352-364. [3] Vila-Viçosa, D., Teixeira, V. H., Baptista, A. M., Machuqueiro, M. (2015) J. Chem. Theory Comput., 11, 2367-2376.