

Estrutura cristalográfica do inibidor de tripsina  
purificado de sementes de *Enterolobium contortisiliquum*  
e modelagem molecular de seus complexos  
com tripsina, trombina e fator Xa

Marcos Roberto Bonfadini

Tese apresentada ao Instituto de Física  
de São Carlos, da Universidade de São Paulo  
para a obtenção do Título de Doutor  
em Ciências: Física Aplicada

Orientador: Prof. Dr. Richard Charles Garratt

São Carlos - 2003

Bonfadini, Marcos Roberto

“Estrutura cristalográfica do inibidor de tripsina purificado de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* e modelagem molecular do inibidor complexado com tripsina, trombina e fatorXa”

Marcos Roberto Bonfadini - São Carlos, 2003.

Tese (Doutorado) -- Instituto de Física de São Carlos,  
2003 – Páginas: 130

Orientador: Prof. Dr. Richard Charles Garratt

1. cristalografia de raios X. 2. modelagem molecular  
3. inibidores de tripsina 4. motivo  $\beta$ -*trefoil*.

I. Título

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Tese de Doutorado de \_\_\_\_\_, apresentada ao Instituto de Física de São Carlos, da Universidade de São Paulo, em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_.

### Comissão Julgadora:

\_\_\_\_\_ (Assinatura)

(Nome/Instituição)

\_\_\_\_\_ (Assinatura)

(Nome/Instituição)

\_\_\_\_\_ (Assinatura)

(Nome/Instituição)

\_\_\_\_\_ (Assinatura)

(Nome/Instituição)

\_\_\_\_\_ (Assinatura)

(Nome/Instituição)

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a Tatiana.

She  
May be the face I can't forget  
A trace of pleasure or regret  
May be my treasure or the price I have to pay  
She may be the song that summer sings  
May be the chill that autumn brings  
May be a hundred different things  
Within the measure of a day.  
She  
May be the beauty or the beast  
May be the famine or the feast  
May turn each day into a heaven or a hell  
She may be the mirror of my dreams  
A smile reflected in a stream  
She may not be what she may seem  
Inside her shell  
She who always seems so happy in a crowd  
Whose eyes can be so private and so proud  
No one's allowed to see them when they cry  
She may be the love that cannot hope to last  
May come to me from shadows of the past  
That I'll remember till the day I die  
She  
May be the reason I survive  
The why and wherefore I'm alive  
The one I'll care for through the rough and many years  
I'll take her laughter and her tears  
And make them all my souvenirs  
For where she goes I've got to be  
The meaning of my life is  
She, she, she

Dedico também aos meus pais Demir e Cleide.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a todos que de uma forma ou de outra, dentro ou fora de minha vida profissional e ao longo dos anos, contribuíram para a concretização deste trabalho. Em especial à orientação do Prof. Dr. Richard Charles Garratt.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	iii
LISTA DE TABELAS .....	vii
RESUMO .....	ix
ABSTRACT .....	x
<b>1 Introdução.....</b>	<b>1</b>
1.1 Enzimas.....	3
1.1.1 Serinoproteases .....	6
1.2 Inibidores de Serinoproteases .....	17
1.2.1 Família SBTI.....	24
1.3 Objetivos.....	28
<b>2 Materiais e Métodos .....</b>	<b>32</b>
2.1 Cristalização e Coleta de Dados Cristalográficos.....	32
2.2 Resolução da Estrutura .....	37
2.3 Refinamento da Estrutura Cristalina.....	38
2.4 Interpretação Automática da Densidade Eletrônica: ARP/wARP ..	42
2.5 Modelagem Molecular por Homologia .....	44
2.5.1 Modelagem dos Complexos .....	46
2.6 Critérios de Qualidade .....	48
2.6.1 PROCHECK .....	48
2.6.2 WHATCHECK .....	50
2.6.3 VERIFY-3D.....	51
<b>3 Resultados e Discussão .....</b>	<b>54</b>



3.1	Cristalização, Coleta e Processamentos de Dados.....	54
3.2	Resolução da Estrutura .....	57
3.3	Refinamento da Estrutura.....	58
3.4	Avaliação da Qualidade da Estrutura com Seqüência Modificada	65
3.5	Descrição da Estrutura .....	69
3.5.1	O Barril .....	74
3.5.2	Os Grampos de Cabelo.....	78
3.5.3	Aspectos Inéditos do Enovelamento .....	79
3.5.4	Os Arcos do Motivo <i>Trefoil</i> .....	84
3.5.5	Águas .....	89
3.5.6	Conformação do <i>Loop</i> Reativo .....	90
3.5.7	Pontes de Dissulfeto.....	96
3.6	Modelagem da Seqüência Proposta.....	96
3.7	Modelagem dos Complexos Entre EcTI e Serinoproteases .....	100
3.7.1	Complexo EcTI/Tripsina .....	100
3.7.2	Complexo EcTI/Trombina.....	103
3.7.3	Complexo EcTI/Fator Xa .....	108
3.7.4	Complexo EcTI/Quimotripsina.....	109
3.7.5	tPA e Fator XIIa .....	110
<b>4</b>	<b>Conclusões .....</b>	<b>113</b>
<b>5</b>	<b>Referências Bibliográficas .....</b>	<b>119</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Perfil de reação enzimática. ....	3
Figura 2: Passos do mecanismo de ação enzimática, acilação (em cima) e desacilação (embaixo).....	8
Figura 3: Representação em vista estéreo da ligação éster, entre o C da carbonila da Ile7 (posição P1 do substrato) e O $\gamma$ da Ser195.....	9
Figura 4: Tripsina porcina (verde) complexada com inibidor SBTI (azul) (PDB 1AVW).....	11
Figura 5: Tripsina representada como superfície sólida complexada com SBTI (em amarelo) .....	12
Figura 6: Sítio ativo da tripsina em complexo com substrato (PDB 2PTC) .....	12
Figura 7: Cascata de coagulação sangüínea .....	14
Figura 8: Molécula de trombina, com suas cadeias leve (vermelho) e pesada (verde) complexada com inibidor (azul).....	14
Figura 9: Fator de coagulação Xa, cadeia leve (vermelho) e pesada (verde) complexado com inibidor não protéico (azul), (PDB 1EZQ) .....	16
Figura 10 : Esquema ilustrando a inibição não competitiva.....	18
Figura 11 : Esquema ilustrando a inibição competitiva.....	19
Figura 12: Aspectos do <i>Enterolobium contortisiliquum</i> .....	26
Figura 13: Ilustração do arranjo experimental da técnica de acupuntura em gel.....	34

## Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

