

## BIOIMPRESSÃO DE LIPASES COM ÁCIDO GRAXO PARA DESENVOLVER BIOCATALISADOR EFICIENTE E SUSTENTÁVEL

BRANDÃO, L M S B<sup>1,2</sup>, BARBOSA, M S<sup>1,2</sup>, PEREIRA, M M<sup>3</sup>, LIMA, A S<sup>1,2</sup> e SOARES, C M F<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Tiradentes

<sup>2</sup> Instituto de Tecnologia e Pesquisa

<sup>3</sup> Universidade de Aveiro

luminhamyrele@gmail.com

### RESUMO EXPANDIDO

A biocatálise é uma ferramenta tecnológica atrativa para obtenção de processos sustentáveis e produtos de elevado valor agregado. Em bioprocessos, as lipases se destacam devido a capacidade de catalisar várias reações (SARMAH *et al.*, 2018). A fim de aprimorar os processos biocatalíticos, a bioimpressão é um método promissor para melhorar o desempenho catalítico e a estabilidade das enzimas. Na bioimpressão, um determinado substrato é impresso na estrutura da enzima, induzindo uma conformação mais seletiva e estável. Entretanto, embora seja uma alternativa promissora, a bioimpressão ainda é pouco explorada (LIU *et al.*, 2011). Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi avaliar e entender o processo de bioimpressão de lipase de *Burkholderia cepacia* (LBC), de pâncreas de porco (LPP), de *Candida rugosa* (LCR) com ácido mirístico, a fim de obter bioprocessos rápidos, sustentáveis e eficientes.

Para este fim, na etapa de bioimpressão a lipase foi incubada numa mistura de isopropanol e ácido mirístico (15:1) por 60 min, sob agitação constante a 25°C. Após agitação, adicionou-se octano para remover o ácido mirístico e, então, o sólido foi recuperado e seco por 24h a 25°C. Em seguida, foi realizada a reação de esterificação com ácido mirístico e álcoois (etanol e butanol 1:1) na razão molar de 1:8, conforme descrito com modificações por Brandão *et al.* (2020). A reação foi iniciada adicionando a lipase bioimpressa sob agitação constante a 45°C por 24h. O monitoramento do nível de ácido graxo residual foi determinado por titulação com 150mM da solução de NaOH, no qual 100µL da amostra foram diluídas em 2mL de solução etanol/acetona (1:1). A fim de entender o processo de bioimpressão molecular, a docagem molecular foi realizada. Para isso, as estruturas da LBC (código PDB: 3LIP), LPP (código PDB: 1ETH) e LCR (código PDB 1LCR) foram obtidas no banco de dados de proteínas (Protein Data Bank – PDB) e a estrutura do ácido mirístico foi obtida pelo ZINC. O *software* AutoDock Vina 1.1.2 foi utilizado para determinar os locais de interação mais favoráveis do ácido graxo na estrutura das lipases.

A Figura 1 mostra as atividades relativas das lipases bioimpressas com ácido mirístico e as simulações de docagem molecular. A partir da Figura 1A, observa-se que o melhor efeito de bioimpressão ocorreu na LBC bioimpressa com ácido mirístico, com atividade relativa de 390%, que foi 3,9 vezes maior que a atividade relativa da LBC não impressa. Esse aumento na atividade da LBC bioimpressa com ácido mirístico ocorreu devido, possivelmente, a mudanças na estrutura da LBC causadas pelo processo de bioimpressão, que facilitou o acesso do substrato ao sítio ativo da LBC (BRANDÃO *et al.*, 2020). Como previsto pelos dados experimentais, as análises de docagem

molecular mostraram que o ácido mirístico foi impresso no sítio ativo da LBC, justificando, assim, o aumento na atividade. Essas análises confirmaram que o ácido mirístico apresentou uma maior preferência de ligação com o sítio ativo da LBC, visto que interage com um aminoácido que constitui a sua tríade catalítica [Histidina 286 (His86)], como observado na Figura 1B. Diferentemente do que ocorreu com a LBC, o ácido mirístico não foi impresso nos sítios ativos da LPP e da LCR, uma vez que não interage com nenhum dos aminoácidos que constituem a tríade catalítica dessas lipases, como observado nas Figuras 1C e 1D. Os dados de docagem molecular elucidaram os resultados experimentais e, portanto, confirmam que a bioimpressão é uma estratégia simples e rápida para desenvolver biocatalisadores eficientes e ambientalmente amigáveis.

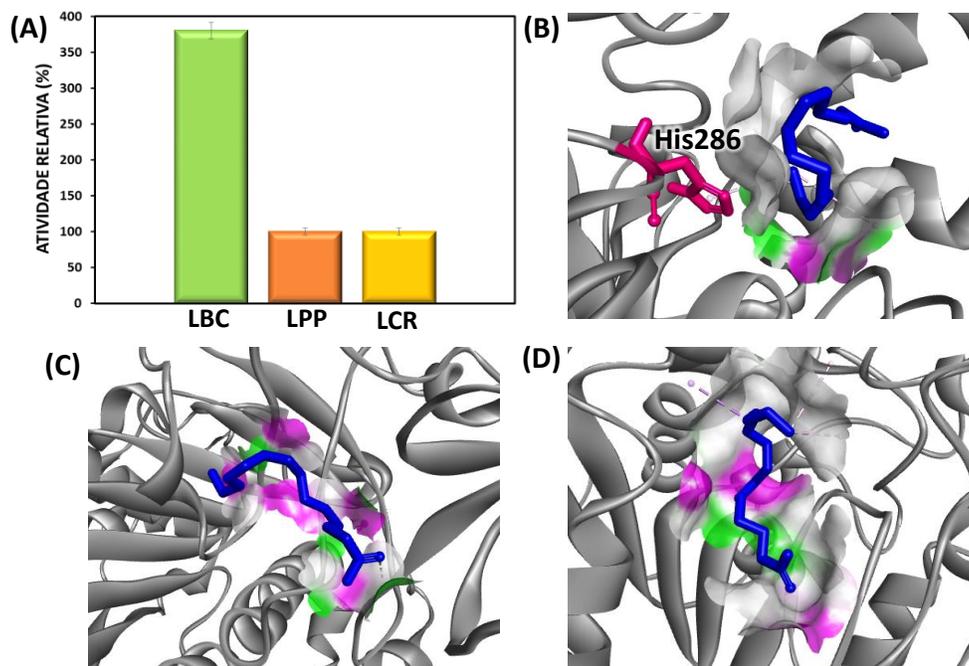


Figura 1 – Atividade relativa das lipases bioimpressas e simulação de docagem molecular: (A) atividade relativa da LBC, da LPP e da LCR bioimpressas com ácido mirístico, (B) docagem molecular da LBC com ácido mirístico, (C) docagem molecular da LPP com ácido mirístico e (D) docagem molecular da LCR com ácido mirístico.

**PALAVRAS-CHAVE:** Bioimpressão de lipase; Ácido mirístico; Docagem molecular.

## REFERÊNCIAS

BRANDÃO, L. M. S.; BARBOSA, M. S.; SOUZA, R. L.; PEREIRA, M. M.; LIMA, A. S.; SOARES, C. M. F. Lipase activation by molecular bioimprinting: The role of interactions between fatty acids and enzyme active site. *Biotechnol Progress*, 2020.

LIU, T.; LIU, Y.; WANG, X.; LI, Q.; WANG, J.; YAN, Y. Improving catalytic performance of Burkholderia cepacia lipase immobilized on macroporous resin NKA. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v. 71, p. 45–50, 2011.

SARMAH, N.; REVATHI, D.; SHEELU, G.; RANI, K.; SRIDHAR, S.; MEHTAB, B.; SUMANA, C. Recent Advances on Sources and Industrial Applications of Lipases. *Biocatalysts and Bioreactor Design*, 2017.