

Análise Estrutural e de Estabilidade do Peptídeo Lunasina: Um Promissor Agente Preventivo e Terapêutico Contra o Câncer

Stephanny M. A. de Souza^{1*}, Dario E. Kalume², Luís M. T. R. Lima³, Theo L. F. de Souza³.

1. Estudante de IC da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ; *faninha93@gmail.com

2. Pesquisador do Depto. de Medicina Tropical, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, RJ.

3. Pesquisador do Depto. de Fármacos e Medicamentos, Faculdade de Farmácia, UFRJ.

Palavras Chave: *lunasina, câncer, análise estrutural*

Introdução

Lunasina é um peptídeo de origem vegetal descoberto em soja [1] e sendo atualmente descrito em várias sementes e grão tais como trigo, cevada, centeio, entre outros [2]. Este peptídeo tem ganhado destaque por apresentar atividade preventiva e terapêutica contra várias linhagens de células tumorais sendo um potencial candidato a biofármaco contra o câncer. A lunasina também apresenta ações adicionais como anti-inflamatório [3], antioxidante [3], hipocolesterolêmico [4] e imunomoduladora [5] descritas. Tendo em vista sua promissora utilização terapêutica, nosso trabalho tem como objetivo obtermos informações acerca da estrutura e estabilidade da lunasina simulando condições fisiológicas, tais como do trato gastrointestinal e plasmática. Especificamente, nosso estudo visa conseguir informações acerca da estrutura secundária, terciária e formação de estados oligoméricos de forma a possibilitar um melhor entendimento da ação fisiológica e da estabilidade estrutural da lunasina.

Resultados e Discussão

A fim de obter informações acerca da estrutura secundária da lunasina, a técnica de difração circular (CD) foi empregada. O resultado da deconvolução dos espectros de CD da lunasina utilizando o servidor DICHROWEB, indica que sua estrutura é majoritariamente desordenada e que possui um pequeno conteúdo de estrutura em fita β , o qual se torna mais estabilizado em pH ácido. Análise de desnaturação por ureia mostra uma diferente estabilidade estrutural da lunasina em pH 1.5 e 7.4. Na presença de concentrações crescentes de TFE, um agente indutor de α -hélice, nos pHs 1.5 e 7.4, lunasina adotou uma estrutura predominantemente α -hélice em ambos pHs. Com o objetivo de obtermos informações sobre a estrutura terciária da lunasina utilizamos a técnica de espectroscopia por emissão de fluorescência intrínseca do triptofano. Nossos resultados revelaram que o único triptofano presente na estrutura da lunasina está exposto ao solvente, indicando que essa região seja desestruturada. Além disso, não foram notadas variações nos espectros de fluorescência variando as condições de pH e na presença ou ausência de agente desnaturante, sugerindo que essa região não está relacionada com a estabilização do conteúdo de fita β . Adicionalmente, realizamos análises utilizando programas de bioinformática para verificar se a lunasina poderia se tratar de uma proteína intrinsecamente desordenada (IDP). Análises da hidropatia da lunasina, empregando a escala de hidrofobicidade de Kyte e Doolittle, revelaram que esse peptídeo possui característica bastante hidrofílica, o que condiz com o observado em IDPs. Adicionalmente, realizamos análises utilizando o preditor de regiões naturalmente desordenadas (PONDR) e, de forma colaborativa, os dados indicam que lunasina é uma IDP com alta carga-hidropatia. Por outro lado, a modelagem estrutural da

lunasina por homologia, utilizando o servidor SWISS-MODEL, sugere que a lunasina é majoritariamente desestruturada, porém com significativo conteúdo de α -hélice. Já com o intuito de investigarmos possíveis estados oligoméricos da lunasina, realizamos análises por ionização por spray de elétrons-espectroscopia de mobilidade iônica-espectrometria de massas (ESI-IMS-MS) e por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Os resultados obtidos por ESI-IMS-MS indicam que esse peptídeo se encontra principalmente no estado monomérico e que o aumento do pH favorece a formação de estados oligoméricos, tais como dímeros, trimeros, tetrameros e pentâmeros, embora em baixas proporções. Além disso, observamos um único pico nos cromatogramas da lunasina em diferentes pHs indicando que a lunasina se encontra majoritariamente no estado monomérico. Provavelmente, os estados oligoméricos observados por ESI-IMS-MS não foram detectados por HPLC por estarem presentes em pequenas proporções. A partir da técnica de espalhamento de luz observamos que a lunasina não tem tendência à agregação e que essa parece ocorrer em pequena proporção no p.l. da lunasina (pH 4.4). Análises de homologia estrutural utilizando o BLASTP revelaram que a lunasina apresenta similaridade com algumas proteínas de estoque em sementes, contudo não possui homologia com proteínas humanas.

Conclusões

Em conclusão, nossos dados apontam que a lunasina possui estrutura majoritariamente desordenada e monomérica em solução, apresentando um pequeno conteúdo de fita β , o qual sofre pequena estabilização em pH ácido. Contudo, lunasina apresenta propensão ao ganho de estrutura e à formação de oligômeros. Além disso, nossos dados apontam que a lunasina se trata de uma IDP, com flexibilidade e capacidade de adotar diferentes conformações, o que poderia ser mais um fator relacionado às diversas ações relatadas para este peptídeo.

Agradecimentos

CNPq e FAPERJ

[1] GALVEZ, A. F.; DE LUMEN, B. O. A soybean cDNA encoding a chromatin-binding peptide inhibits mitosis in mammalian cells. *Nat Biotechnol*, v. 17, n. 5, p. 495–500, 1999.

[2] HERNÁNDEZ-LEDESMA, B.; DE LUMEN, B. O.; HSIEH, C-C. 1997-2012: Fifteen years of research on peptide lunasin. In: Hernández-Ledesma B, Hsieh C-C, editors. *Bioactive Food Peptides on Health and disease*, Rijeka: InTech, p. 3–22, 2013.

[3] HERNÁNDEZ-LEDESMA, B.; HSIEH, C-C; DE LUMEN, B. O. Antioxidant and anti-inflammatory properties of cancer preventive peptide lunasin in RAW 264.7 macrophages. *Biochem Biophys Res Commun*, v. 390, n. 3, p. 803-808, 2009.

[4] GALVEZ, A. F. Identification of lunasin as the active component in soy protein responsible for reducing LDL cholesterol and risk of cardiovascular disease. *Circulation Research*, v. 126, p. A10693, 2012.

[5] TUNG, C-Y. et al. Activation of dendritic cell function by soy peptide lunasin as a novel vaccine adjuvant. *Vaccine*, v. 32, n. 5411-5419, 2014.