

***Ricinus communis*: A MAMONA E A SUA BIOLOGIA DE SISTEMAS**

A. S. Pereira¹, I. B. Ferreira², J. J. Martins³ e F. T. Duarte⁴
E-mail: alessandro.ifrn.pereira@gmail.com¹ e fabio.duarte@ifrn.edu.br⁴

RESUMO

Ricinus communis, popularmente conhecido como mamona, é um vegetal que possui diversas aplicações médicas e industriais. O grande potencial desse vegetal está na produção do rícino, um óleo com muitas particularidades, o que o torna bastante útil na indústria. Muitas são as investigações científicas com esse organismo, no entanto, a falta de informações precisas sobre a biossíntese do rícino impossibilita uma maior aplicação desse lipídeo. Por isso, faz-se cada vez mais necessário conhecer as particularidades e características do metabolismo de lipídios do *R. communis*. Visando ao

entendimento melhor dessa biossíntese, realizamos uma análise de biologia de sistema de *R. communis*. Para essa análise, utilizamos sequências genômicas desse vegetal disponibilizadas no banco de dados de sequência nucleotídica. As sequências obtidas foram submetidas à plataforma STRING e os dados gerados foram analisados no programa Cytoscap. Os resultados revelaram quatro proteínas chaves na biossíntese de lipídeos, das quais duas são proteínas hipotéticas. A análise de biologia de sistemas mostrou-se bastante eficiente na investigação de vias metabólicas em *R. communis*.

PALAVRAS-CHAVE: *Ricinus communis*, metabolismo de lipídios e biologia de sistemas.

***Ricinus communis*: THE CASTOR BEAN AND YOUR SYSTEMS BIOLOGY**

ABSTRACT

Ricinus communis, popularly known as castor bean, is a plant that has many medical and industrial applications. The great potential of this plant is in the production of castor oil, an oil with many particularities, which make it very useful in industry. There are many scientific studies with this organism, however, the lack of precise information on the biosynthesis of castor oil prevents the further application of this lipid. Therefore, it is increasingly necessary to know the features and characteristics of lipid metabolism of *R. communis*. Aiming a better understanding of this biosynthesis, we

performed an analysis of system biology in *R. communis*. For this analysis we used genomic sequences of this plant available in the database of nucleotide sequence. The sequences obtained were submitted to STRING platform and the data generated were analyzed using the Cytoscape software. The results revealed four key proteins in the biosynthesis of lipids with two of these been hypothetical proteins. The analysis of systems biology showed to be very efficient in the investigation of metabolic pathways of *R. communis*.

KEYWORDS: *Ricinus communis*, metabolism of lipids and systems biology.

1 INTRODUÇÃO

Os ciclos naturais são os geradores das energias renováveis como o sol (energia solar), o vento (energia eólica), os rios e as correntes de água doce (energia hidráulica), os mares e oceanos (energia mareomotriz e energia das ondas), as matérias orgânicas (biomassa) e o calor da Terra (energia geotérmica). Outra fonte de energia que tem gerado bastante interesse ao governo brasileiro são os combustíveis renováveis, que são oriundos de matéria-prima renovável para a natureza, principalmente os de origem vegetal, como a cana-de-açúcar (*Saccharum L.*), utilizada na fabricação do etanol, a mamona (*Ricinus communis*) e o girassol (*Helianthus annuus*), usados na fabricação do biodiesel ou outros óleos vegetais, que podem ser usados diretamente em motores a diesel com algumas adaptações (PAPER, 2011). A utilização das energias renováveis emerge em uma conjuntura bastante favorável para sua implementação, pois vivemos um momento em que os problemas socioambientais são bastante evidentes e trazem sérios problemas às populações humanas em todo mundo. Para PACHECO (2006), “As energias renováveis podem e devem ser utilizadas de forma sustentada, de maneira tal que resulte em mínimo impacto ao meio ambiente”. FLÓREZ (2003), por sua vez, afirma que “As energias renováveis solucionarão muito dos problemas ambientais, como as mudanças climáticas, os resíduos radioativos, as chuvas ácidas e a contaminação atmosférica. Porém para isso temos falta de vontade política e dinheiro”.

Visando, portanto, a fornecer subsídios para o uso mais eficiente de biocombustível, principalmente do biodiesel oriundo do óleo da mamona, resolvemos investigar a via metabólica da biossíntese de lipídeos da mamona. A mamoneira, cientificamente denominada *Ricinus communis* L, é um vegetal da família Euphorbiaceae e seu fruto é conhecido como mamona ou rícino. No Brasil, ela também é conhecida como mamoneira, ricino, carrapateira, bafureira, baga, planta christi e palma-criste. Em algumas regiões africanas, é conhecida como abelmeluco. Na língua inglesa, por sua vez, ela recebe o nome de “*castor bean*” e “*cator seed*” (EMBRAPA, 2012).

A mamona tem como principal produto o óleo, também chamado de óleo de rícino. Na medicina popular, o rícino é usado como purgativo. Esse óleo é uma matéria-prima de aplicações únicas na indústria química devido a características peculiares de sua molécula, que o fazem o único óleo vegetal naturalmente hidroxilado e com uma composição com predominância de um único ácido graxo, ricinoléico, conferindo-lhe as propriedades químicas atípicas como alta viscosidade e solubilidade em álcool a baixa temperatura (BELTRÃO, 2004). O óleo de rícino, portanto, devido a todas essas características, pode também ser utilizado como matéria-prima para o biodiesel (CHIERICE e CLARO NETO, 2001).

O cultivo de rícinos sofre algumas restrições (JACKSON *et al*, 2006), pois a mamona produz proteínas tóxicas que são encontradas no endosperma das suas sementes, sendo a principal a ricina uma citotoxina que é venenosa a humanos, animais e insetos (LER, *et al*, 2006). Stillmark, em 1888, nomeou a ricina, também conhecida como RCA 60, por ter 60 kDa, quando analisava os efeitos do extrato de mamona em células vermelhas de sangue e observou que se aglutinaram (HOFMAN *et al*, 2007). Atualmente, é sabido que a aglutinação observada é causada pela RCA (do inglês: *Ricinus communis* agglutinin), uma lectina potente com função hemolítica também

encontrada no endosperma da mamona. Dadas essas propriedades tóxicas, os produtos do *Ricinus communis* poderiam ser usados como armas de bioterrorismo de grande poder letal (PINKERTON *et al.*, 1999). O efeito tóxico da ricina deve-se à habilidade de inativar os ribossomos eucarióticos específica e irreversivelmente, promovendo a morte das células pela inibição da síntese de proteína. As duas cadeias juntas constituem uma das citotoxinas mais potentes da natureza, considerando que nenhum efeito tóxico é conhecido para as cadeias isoladas (HOFFMAN *et al.*, 2007). A intoxicação por ricina causa imediatamente dores abdominais e vômitos. Em alguns dias, ocorre desidratação severa, com decréscimo da produção de urina e diminuição da pressão sanguínea. A vítima usualmente recupera-se quando não ocorre morte entre três e cinco dias (DOAN, 2005).

A análise aplicada para o estudo da *R. communis* L foi a "*Biologia Sistêmica que é a Ciência de descobrir, modelar, entender e, em última instância, projetar as relações dinâmicas entre as moléculas biológicas que definem os organismos vivos*" (MAYORGA, 2008). É nesse contexto que a biologia de sistemas possibilita o estudo das interações entre os componentes de um sistema biológico e de como essas interações fazem emergir função e comportamento no sistema. Os componentes que interagem dinamicamente incluem genes, proteínas e metabólitos numa via metabólica. A biologia de sistema é fundamentada na elaboração de redes interatomas, que têm como objetivo final unir as informações do genoma, do proteoma e do metaboloma, gerando informações auxiliares no entendimento de funções e ações direcionadas a fármacos e moléculas biologicamente ativas (IDEKER *et al.*, 2001). Vários são os *softwares* utilizados na construção das redes interatômicas, no entanto, os mais aplicados são o STRING, o STITCH e o Cytoscape. A escolha dos *softwares* depende do organismo estudado, da hipótese a ser investigada, como também do banco de dados no qual está depositada a sequência a ser estudada - se NCBI ou Swiss-Prot. Também é importante que os interatomas sejam feitos por diferentes programas computacionais para futuras comparações que promovam uma maior confiança nos dados finais (ESPINDOLA *et al.*, 2010). Sendo assim, este trabalho objetiva realizar análise de biologia de sistemas das proteínas do metabolismo de lipídeos, a fim de elucidar a biossíntese do ricino e dos demais lipídeos sintetizados por *R. communis*.

2 METODOLOGIA

Nos últimos anos, com a execução de centenas de projetos genoma, milhares de sequências nucleotídicas e peptídicas foram depositadas nos bancos públicos, cujos acessos são gratuitos. Dessa maneira, as sequências de *R. communis* e outros organismos estão disponíveis em bancos públicos mundiais. As sequências de interesse foram adquiridas para dispormos de um banco de dados particular. Para isso, foi acessado o principal banco GenBank Overview do NCBI-National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Uma vez de posse dos dados depositados em nosso banco de dados, foram realizadas as construções de redes interatômicas. Para execução dessa atividade, foi utilizado o portal do STRING (<http://string.embl.de/>), o qual consiste em bancos de dados que contêm as interações de proteína previstas. As interações são estabelecidas utilizando-se diversos parâmetros, que incluem

as associações diretas (físico) e indiretas (funcional), provenientes de quatro fontes: o contexto genômico, experimentos de alta capacidade, coexpressão e conhecimento prévio (SZKLARCZYK *et al.*, 2011, KUHN *et al.*, 2009).

Para analisar, interpretar e formatar as redes interatômicas, foi utilizado o *Cytoscape*, que é um *software* de bioinformática de código aberto e gratuito, utilizado para visualizar interações de redes moleculares (SMOOT, 2011). Nesta análise, foi utilizado o *plugins* CentiScaPe para calcular a centralidade (SCARDONI *et al.*, 2009).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um interatoma foi gerado pela plataforma STRING com sequências de proteínas com funções relacionadas ao metabolismo de lipídeos de *R. communis*, o qual apresentou 19 nodes e 70 edges (conexões) - ver figura 1. A fim de um maior entendimento da biossíntese de lipídeo, esse interatoma foi expandido, criando outro com 53 nodes e 281 edges (figura 3).

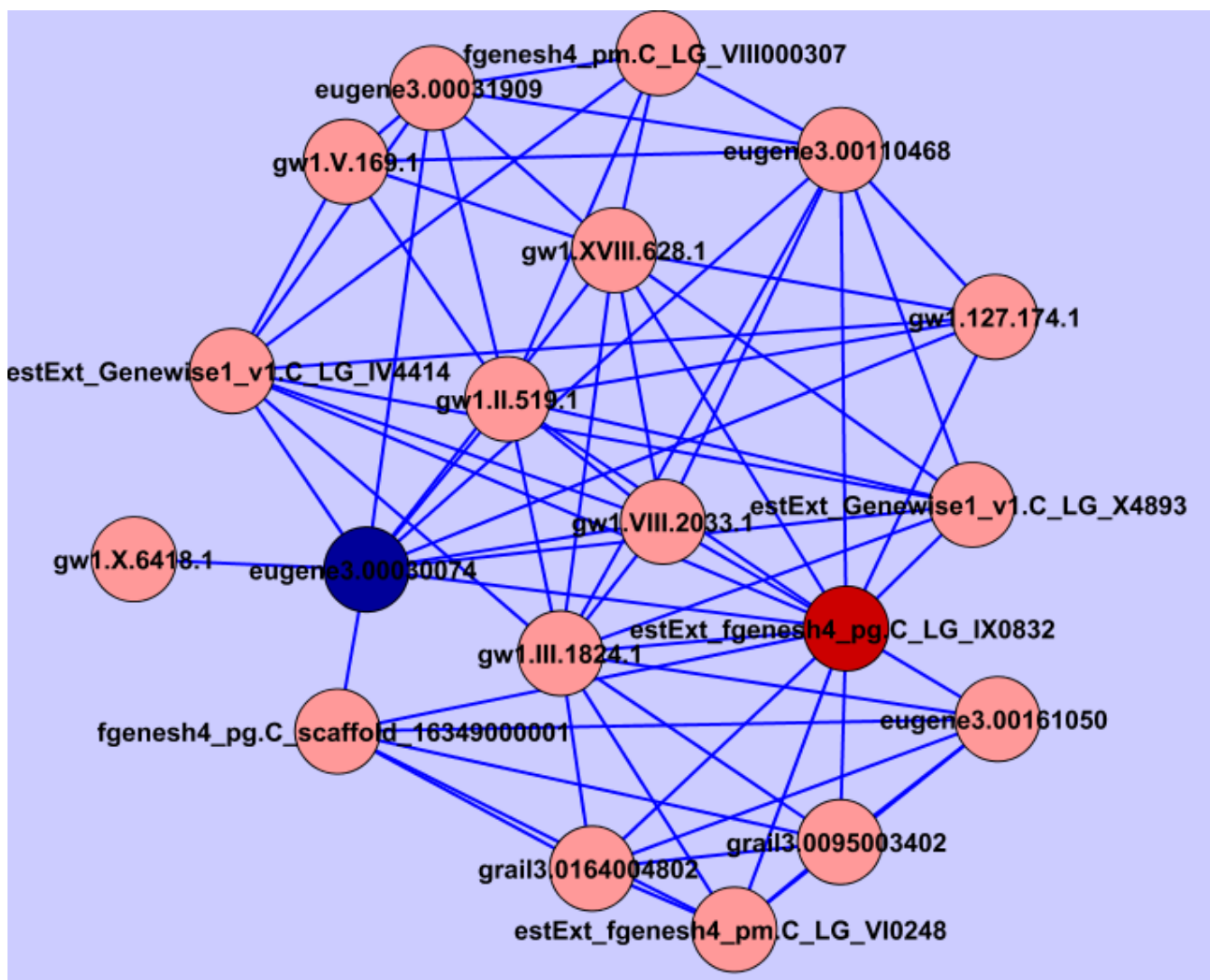


Figura 1: Interatoma 1 - elaborado a partir de 19 sequências peptídicas, de proteínas pertencentes a via da biossíntese de lipídeos em *R. communis*. Em destaque as proteínas identificadas como *bottlenecks*.

A análise de centralidade revelou em cada um dos interatomos dois *bottlenecks*, os quais são a representação das proteínas chaves em uma determina via metabólica. Os dois *bottlenecks* selecionados foram os que apresentaram maiores valores de centralidade (Figura 2 e 4).

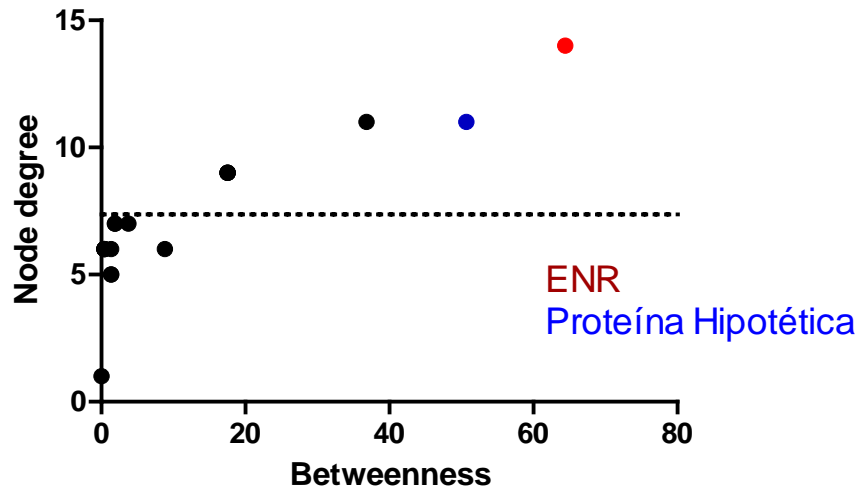


Figura 2. Gráficos de identificação dos bottleneck no interatorma 1

Esses bottleneck revelados são representados no primeiro interatorma por uma proteína hipotética e uma Enoil-(Proteína de Transporte de Acila) Redutase (NADPH, B-Específica) (EC 1.3.1.9). Proteínas hipotéticas ou putativas são definidas como proteínas preditas computacionalmente a partir de sequências de nucleotídeos, geralmente dos genomas, porém sua expressão pela célula ou pelo organismo respectivo ainda não foi confirmada experimentalmente. Além disso, não existem proteínas com função determinada que sejam similares às proteínas hipotéticas (REZENDE, 2012). A Enoil-(Proteína de Transporte de Acila) Redutase (NADPH, B-Específica) é classificada como EC 1.3.1.9. Essa enzima catalisa a oxidação da acila [proteína de transporte de acila], a trans-2,3-dehidroacila [proteína de transporte acila] na via biossintética dos ácidos graxos. Possui preferência pelos derivados de acila com cadeias que variam entre 4 e 16 carbonos de comprimento (BVS, 2013). É uma enzima chave do sistema de síntese de ácidos graxos (FAS).

Esses resultados mostram que a biossintese de lipídios em *R. communis* é pouco entendida, uma vez que foi identificada uma proteína hipotéticas tanto no primeiro interatorma quanto no segundo (figura 3).

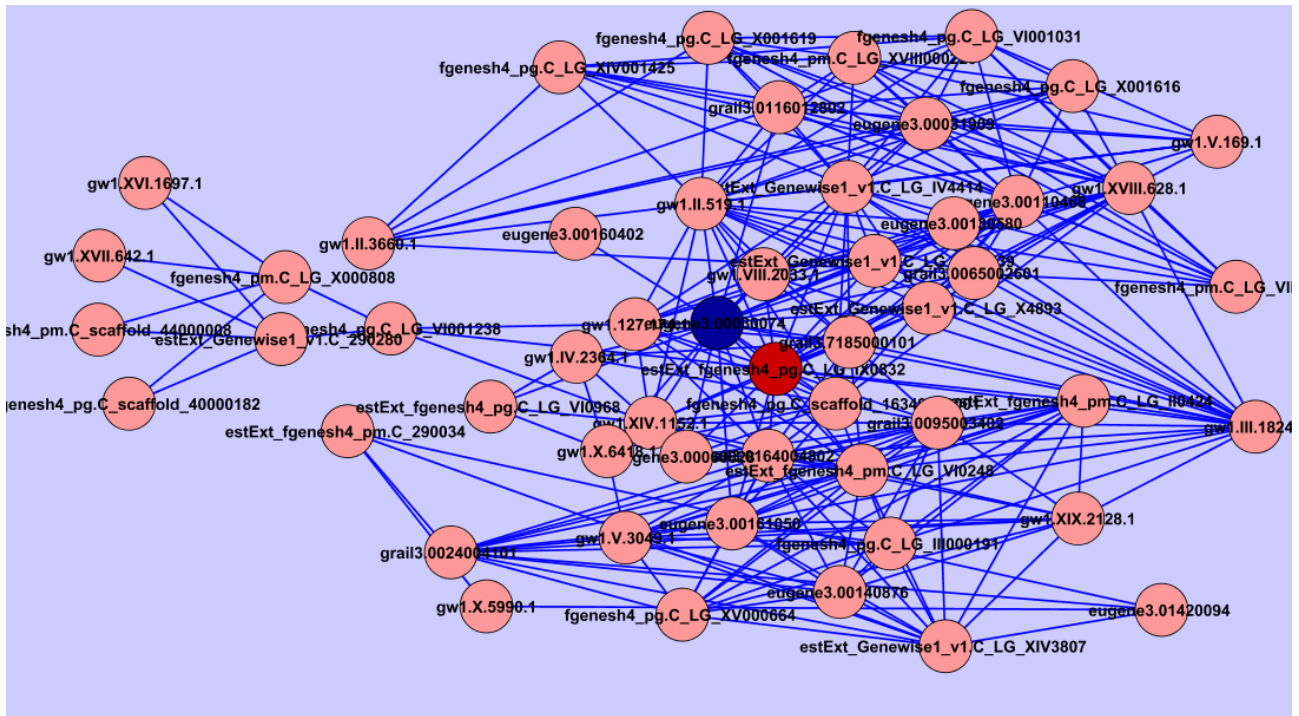


Figura 3: Interatoma 1 - elaborado a partir da expansão do primeiro interatoma. Em destaque as proteínas identificadas como *bottlenecks*.

Os *bottlenecks* identificados no segundo interatoma são também outras proteínas hipotéticas e uma proteína de transporte de acila S-maloniltransferase (EC 2.3.1.39). Essa enzima catalisa a transacilação do malonato a partir da malonil CoA em ACP-holoativado para gerar malonil (proteína carreadora de acila), um substrato alongado na biossíntese de ácidos graxos. É uma enzima essencial na biossíntese de ácidos graxos (BDS, 2013).

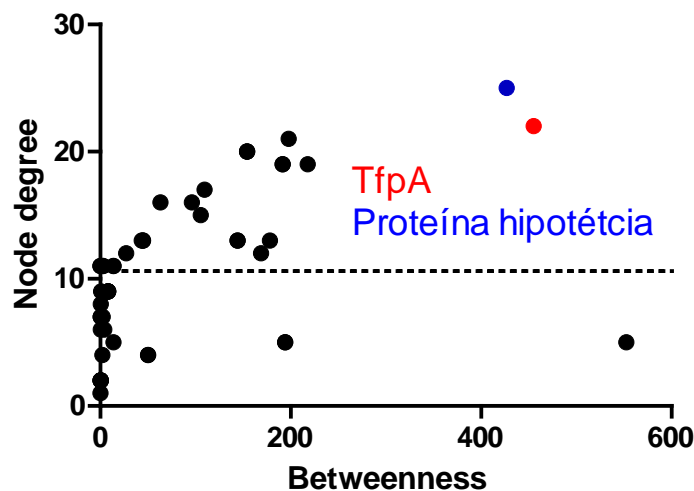


Figura 4. Gráficos de identificação dos *bottlenecks* no interatoma 2.

4 CONCLUSÃO

Os resultados mostraram as proteínas chaves da biossíntese de lipídios interagindo com proteínas hipotéticas que ainda não têm função caracterizada. Esse dado revela que os mecanismos de biossíntese do rícino e demais ácidos graxos ainda não são totalmente compreendidos. Sendo assim, a biologia de sistema mostrou-se uma ferramenta importante no entendimento de processos biológicos bem como detectou duas proteínas com função desconhecida cuja caracterização é necessária para se obter a compreensão completa do mecanismo da biossíntese de ácidos graxos em *R. communis*.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BVS, Descritores de ciências da saúde, Disponível em, <http://decs.bvs.br> Acesso em: 04/06/2013
- BELTRÃO, N. E. de M.; O biodiesel do óleo da mamona e a produção de fitomassa: considerações gerais e singularidade. Campina Grande: EMBRAPA-CNPA, 2004, 2p.
- CHIERICE, G.O.; CLARO NETO, S. Aplicação industrial do óleo. In: AZEVEDO, D.M. P de; LIMA, E.F. (Org.) O Agronegócio da mamona no Brasil. Brasília: Embrapa Comunicação para transferência de tecnologias, (org.), p. 89- 120, 2001.
- EMBRAPA, Mamona , Disponível em; <http://www.cnpa.embrapa.br/produtos/mamona/index.html> Acesso em: 27/04/2012
- ESPINDOLA, F. S.; CALÁBRIA, L. K.; DE, A. A. A. *et al.* recursos de bioinformática aplicados às ciências ômicas como genômica , transcriptômica , proteômica , Biosci. J. June, p. 463-477, 2010.
- FLÓREZ JS. A energia renovável é o futuro. 2003. Disponível em; ([http://www.ufrgs.br/museudetopografia/Artigos/As energias renovaveis e o futuro.pdf](http://www.ufrgs.br/museudetopografia/Artigos/As_energias_renovaveis_e_o_futuro.pdf)) Acesso em: 27/04/2012
- IDEKER, T.; GALITSKI, T.; HOOD, L. A new approach to decoding life: systems biology. Annual Review of Genomics and Human Genetics, Palo Alto, CA, v. 2, p. 343-372, Sept. 2001
- MAYORGA, L. S. Biología de Sistemas y su aplicación en Biología Celular y Molecular . [S.d.].2008.
- PACHECO, F. Energias Renováveis : breves conceitos. p. 4-11, 2006.
- PAPER, W. O mundo Sustentável das Energias Renováveis. p. 1-8, 2011.
- SCARDONI, G.; PETTERLINI, M.; LAUDANNA, C. Analyzing biological network parameters with CentiScaPe. Bioinformatics (Oxford, England), v. 25, n. 21, p. 2857-9, 1 nov 2009.
- SZKLARCZYK, D.; FRANCESCHINI, A.; KUHN, M. *et al.* The STRING database in 2011: functional interaction networks of proteins, globally integrated and scored. Nucleic acids research, v. 39, n. Database issue, p. D561-8, jan 2011
- REZENDE, A.S. Predição Computacional de Interações de Proteína-Proteína em Proteomas Preditos de Leishmania. Belo Horizonte, 2012. Tese de doutorado - Programa de Pós Graduação em Bioinformática - Instituto de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Minas Gerais, 2012.