

RAFAEL MATIAS SILVA

**ESTUDO CINÉTICO DO MECANISMO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA DNA
TOPOISOMERASE I DE *Escherichia coli***

Monografia apresentada ao Departamento de
Química da Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências para a conclusão do
Curso de Bacharelado em Química.

Orientador: Emilio Borges

**VIÇOSA – MINAS GERAIS
2022**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha mãe pelo apoio durante essa trajetória e por ter trabalhado tanto para que a minha realidade fosse diferente da dela, considerando quando ela tinha a minha idade. Sem ela, nada disso seria possível.

Agradeço ao meu pai e a alguns familiares pelo apoio financeiro.

Agradeço aos meus amigos que tornaram essa trajetória mais que especial.

Agradeço ao meu orientador, Emilio Borges, por todos os ensinamentos, pelo apoio, pelas conversas e pelas aulas. Aprendi muito com você.

Agradeço também aos meus outros orientadores durante a graduação, professores do LAQUA, professores coordenadores da monitoria das disciplinas QUI 100, QUI 107 e QUI 112. E não menos importante, a todos os envolvidos no programa da Tutoria. Foi incrível conhecer todos vocês.

Agradeço ao CELIN e ao CELIF por terem me concedido bolsas de estudo para que eu pudesse me dedicar aos idiomas que tanto amo.

Agradeço em especial aos meus amigos Júnio e Diego por terem me ajudado diretamente para a realização desse trabalho.

Agradeço a todos que foram exemplos do que não fazer, isso foi fundamental para o meu crescimento pessoal e profissional.

Agradeço a UFV e ao CNPq pelas bolsas, que contribuíram muito para a minha manutenção na Universidade.

“O importante é não parar de questionar”
Albert Einstein

RESUMO

SILVA, Rafael Matias, monografia de conclusão do Curso de Bacharelado em Química. Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2022. **Estudo cinético do mecanismo da atividade enzimática da enzima DNA topoisomerase I de *Escherichia coli***. Orientador: Emilio Borges.

Este trabalho teve como objetivo estudar a cinética enzimática da DNA topoisomerase I de *Escherichia coli* que atua no enovelamento da molécula de DNA (substrato). Como essa enzima segue o mecanismo de atuação do tipo Michaelis-Menten foi possível obter parâmetros cinéticos a partir de dados experimentais. Para tal, obtiveram-se as constantes cinéticas de cada etapa do mecanismo a partir de k_M e k_{CAT} fornecidas na literatura, sendo $k_1 = 2,3 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ e $k_{-1} = 2,4 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$. Com esse resultado, utilizou-se o método de Euler para encontrar a concentração da espécie química intermediária em função do tempo (concentração experimental). Logo em seguida, comparou-se esse resultado com a concentração teórica obtida a partir da rede neural de Hopfield a fim de se obter a função energia e avaliar a eficiência desse método. Observou-se que a função energia é da ordem de 10^{-16} , ou seja, a rede neural reproduziu de maneira satisfatória os dados experimentais. Além disso, pode-se observar que colocando propositalmente constantes com um erro em relação à constante original, a rede foi capaz de resgatar o valor adequado da constante através do aprendizado dos neurônios, resolvendo o problema inverso mal-colocado. Ademais, com as constantes foi possível encontrar os valores das variações das energias de Gibbs de ativação para cada etapa do mecanismo, sendo: 88,04 kJ/mol (k_1), 93,64 kJ/mol (k_{-1}) e 87,38 kJ/mol (k_2). Por fim, concluiu-se que essa monografia pode contribuir para novas pesquisas atreladas a catálise enzimática, visto que o método se mostrou eficiente para resolver o problema inverso cinético mal-colocado.

Palavras-chaves: DNA topoisomerase I de *E. coli*; Cinética de Michaelis-Menten; Problema inverso mal-colocado; Rede neural de Hopfield.

ABSTRACT

SILVA, Rafael Matias , Undergraduate Final Paper Submitted to the Department of Chemistry in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Bachelor in Chemistry, Universidade Federal de Viçosa, February, 2022. **Kinetic study of the enzymatic activity mechanism of the DNA topoisomerase I from *Escherichia coli*.** Advisor: Emilio Borges.

This work aimed to study the enzymatic kinetics of DNA topoisomerase I from *Escherichia coli* that acts on the folding of the DNA molecule (substrate). As this enzyme follows the Michaelis-Menten mechanism of action, it was possible to obtain kinetic parameters from experimental data. To this end, the kinetic constants of each step of the mechanism were obtained from k_M and k_{CAT} provided in the literature, where $k_1 = 2.3 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ and $k_{-1} = 2.4 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$. With this result, the Euler method was used to find the concentration of the intermediate chemical species as a function of time (experimental concentration). Soon after, this result was compared with the theoretical concentration obtained from the Hopfield neural network (taking into account the appropriate constants) in order to obtain the energy function and evaluate the efficiency of this method. It was observed that the energy function is in the order of 10^{-16} , that is, the neural network satisfactorily reproduced the experimental data. Furthermore, it could be observed that by purposely placing constants with an error in relation to the original constant, the network was able to rescue the proper value of the constant through the learning of the neurons, solving the misplaced inverse problem. Besides, with the constants it was possible to find the values of Gibbs activation energies variations for each step of the mechanism, being: 88.04 kJ/mol (k_1), 93.64 kJ/mol (k_{-1}) and 87.38 kJ/mol (k_2). Finally, it can be concluded that this undergraduate paper can contribute to new researches linked to enzymatic catalysis, since the method proved to be efficient to solve the misplaced kinetic inverse problem.

Keywords: DNA topoisomerase I from *E. coli*; Michaelis-Menten kinetics; Misplaced inverse problem; Hopfield neural network.