

Fermented Soy-Derived Bioactive Peptides Selected by a Molecular Docking Approach Show Antioxidant Properties Involving the Keap1/Nrf2 Pathway

Federica Tonolo ^{1,†}, Laura Moretto ^{1,†}, Alessandro Grinzato ^{1,†}, Federico Fiorese ^{1,3}, Alessandra Folda ¹, Valeria Scalcon ¹, Stefania Ferro ^{1,3}, Giorgio Arrigoni ^{1,2,3}, Marco Bellamio ⁴, Emiliano Feller ⁴, Alberto Bindoli ⁵, Oriano Marin ^{1,3,*} and Maria Pia Rigobello ^{1,*}

¹ Department of Biomedical Sciences, University of Padova, via Ugo Bassi 58/b, 35131 Padova, Italy; ² Proteomics Center, University of Padova and Azienda Ospedaliera di Padova

³ CRIBI, Biotechnology Center, University of Padova

⁴ Centrale del Latte di Vicenza, UO di Centrale del Latte d'Italia, via Alessandro Faedo, 60 Vicenza;

⁵ Institute of Neuroscience (CNR), viale G. Colombo 3, 35131, Padova, Italy;

* Correspondence: oriano.marin@unipd (O.M.), mariapia.rigobello@unipd.it (M.P.R.)

† These authors contributed equally

Abstract

Bioactive peptides are a group of molecules with health beneficial properties deriving from food matrices. They are protein fragments consisting of 2–20 amino acids that can be released by microbial fermentation, food processing and gastrointestinal digestion. Once hydrolyzed from their native proteins, they can have different functions including antioxidant activity, which is important for cell protection by oxidant agents. In this work, fermented soy products were digested *in vitro* in order to improve the release of bioactive peptides. These were extracted, purified and analyzed *in vitro* and in a cellular model to assess their antioxidant activity. Peptide sequences were identified by LC-MS/MS analysis and a molecular docking approach was used to predict their ability to interact with Keap1, one of the key proteins of the Keap1/Nrf2 pathway, the major system involved in redox regulation. Peptides showing a high score of interaction were selected and tested for their antioxidant properties in a cellular environment using the Caco-2 cell line and examined for their capability to defend cells against oxidative stress. Our results indicate that several of the selected peptides were indeed able to activate the Keap1/Nrf2 pathway with the consequent overexpression of antioxidant and phase II enzymes.

21.12.2020

Peptidi bioattivi derivanti dalla soia fermentata selezionati attraverso un approccio di molecular docking esprimono il loro potere antiossidante tramite l'attivazione della via di segnale Keap1/Nrf2

Federica Tonolo ^{1,†}, Laura Moretto ^{1,†}, Alessandro Grinzato ^{1,†}, Federico Fiorese ^{1,3}, Alessandra Folda ¹, Valeria Scalcon ¹, Stefania Ferro ^{1,3}, Giorgio Arrigoni ^{1,2,3}, Marco Bellamio ⁴, Emiliano Feller ⁴, Alberto Bindoli ⁵, Oriano Marin ^{1,3,*} and Maria Pia Rigobello ^{1,*}

¹ Department of Biomedical Sciences, University of Padova, via Ugo Bassi 58/b, 35131 Padova, Italy; ² Proteomics Center, University of Padova and Azienda Ospedaliera di Padova

³ CRIBI, Biotechnology Center, University of Padova

⁴ Centrale del Latte di Vicenza, UO di Centrale del Latte d'Italia, via Alessandro Faedo, 60 Vicenza;

⁵ Institute of Neuroscience (CNR), viale G. Colombo 3, 35131, Padova, Italy;

* Correspondence: oriano.marin@unipd (O.M.), mariapia.rigobello@unipd.it (M.P.R.)

† These authors contributed equally

Riassunto

I peptidi bioattivi sono un gruppo di molecole provenienti da diverse matrici alimentari che possiedono numerose proprietà benefiche per l'organismo. Questi sono composti da 2 a 20 amminoacidi e possono essere rilasciati dalle proteine presenti nella matrice alimentare attraverso vari meccanismi, come per esempio durante la fermentazione, la lavorazione dei prodotti e la digestione gastro-intestinale. Una volta che questi peptidi sono stati liberati dalle proteine native, possono svolgere differenti attività tra le quali, per esempio, antiossidante, anti-infiammatorie, anti-ipertensive e oppioidi.

Punti di rilievo e novità

-In questo lavoro, **prodotti di soia fermentata forniti dalla Centrale del Latte di Vicenza, sono stati sottoposti a simulazione della digestione gastro-intestinale** in modo tale da incrementare il rilascio dei peptidi bioattivi. Successivamente le frazioni peptidiche ottenute vengono estratte, purificate e analizzate *in vitro* e in un modello cellulare per testare le proprietà antiossidanti.

-Le sequenze dei peptidi sono state identificate tramite spettrometria di massa (LC-MS). Quindi, i peptidi sono stati selezionati con il *molecular docking* per la loro capacità di legare il dominio di Keap1 coinvolto nell'interazione con il fattore di trascrizione Nrf2, le due proteine cardine della via di segnale Keap1/Nrf2, il *signaling pathway* maggiormente coinvolto nella regolazione dell'omeostasi redox. I peptidi la cui predizione ha rivelato un alto *score* di interazione con Keap1 sono stati sintetizzati e testati per le loro capacità antiossidanti in cellule Caco-2.

-I risultati ottenuti hanno dimostrato che **alcuni peptidi sono capaci di svolgere la loro azione antiossidante** attivando la via di segnale Keap1/Nrf2 con il conseguente aumento dell'espressione e dell'attività degli enzimi antiossidanti e di fase II.

Questa potrebbe essere la base di partenza per ottenere un prodotto funzionalizzato.

21.12.2020