

---

**Título em Português:** CARACTERIZAÇÃO DOS DOMÍNIOS N- E C-TERMINAIS DA BIP HUMANA (HSPA5)  
**Título em Inglês:** CHARACTERIZATION OF THE N- AND C- TERMINAL DOMAINS OF HUMAN BIP PROTEIN (HSPA5)  
**Área de Pesquisa:** Química de Macromoléculas  
**Palavras Chave:** Chaperonas - Hsp70 - Homo sapiens  
**Ag. Financiadora do Projeto:** FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo  
**Projeto:** Iniciação Científica  
**Unidade de Apresentação:** Instituto de Química de São Carlos  
**Departamento:**  
**Validado em:** 23/09/2020

---

**Autor:**

Nome: Bruna Siebeneichler Unidade:  
Instituição: Universidade Federal de São Carlos /  
Universidade de São Paulo

---

**Orientador:**

Nome: Júlio César Borges Instituição: Universidade de São Paulo  
Unidade: Instituto de Química de São Carlos

---

**Colaborador:**

Nome: Noeli Soares Melo da Silva Instituição: Universidade de São Paulo

---

Resumo do Trabalho em português:



## CARACTERIZAÇÃO DOS DOMÍNIOS N- E C-TERMINAIS DA BiP HUMANA (HSPA5)

Bruna Siebeneichler

Noeli Soares Melo da Silva

Júlio César Borges

Universidade de São Paulo

brunasiebe@gmail.com

### Objetivos

Produção e purificação dos domínios da proteína humana BiP (Figura 1): domínio de ligação ao nucleotídeo (DLN) e o domínio de ligação proteína cliente (DLP). Seguido das caracterizações estruturais e funcionais por meio de técnicas biofísicas e bioquímicas.

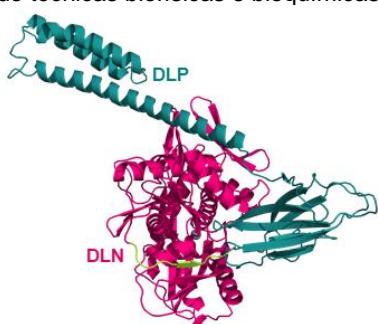


Figura 1: Estrutura 3D da BiP humana (PDB ID:5E84)

### Métodos e Procedimentos

As construções dos DLN e o DLP recombinantes foram superexpressos em *Escherichia coli* BL21(DE3) por meio do vetor pET28a. As purificações foram feitas por cromatografia de afinidade ao Ni<sup>2+</sup> e pela cromatografia de exclusão por tamanho. A purificação foi acompanhada por SDS-PAGE 15%. Os domínios purificados foram então analisados usando as técnicas: dicroísmo circular (CD), fluorescência intrínseca do triptofano, calorimetria diferencial de varredura

(DSC), cromatografia de exclusão por tamanho analítico (aSEC) e por meio das atividades ATPásica e chaperona.

### Resultados

Os domínios foram obtidos com elevada pureza (>95%). A estrutura secundária, analisada por CD, mostrou que o DLN é majoritariamente composto por hélice-α, enquanto que o DLP por folha-β. Na fluorescência intrínseca do triptofano, apenas o DLN na presença dos nucleotídeos sofreu alterações na estrutura terciária local. Nas análises térmicas, por CD e DSC, o DLP se mostrou termicamente mais estável e o DLN ganhou estabilidade na presença de nucleotídeos adenosina. Na aSEC, o DLN se mostrou um monômero globular, enquanto que o DLP se apresentou como uma mistura de diversas espécies oligoméricas. Quanto as características funcionais, o DLN apresentou atividade ATPásica e o DLP mostrou atividade chaperona sobre uma proteína cliente modelo.

### Conclusões

Os DLN e DLP da BiP humana são essenciais para o seu funcionamento, e neste trabalho foi possível observar que ambos contribuem para a estabilidade e funcionalidade da proteína.

### Referências Bibliográficas

WANG, J. et al. HSPA5 Gene encoding Hsp70 chaperone BiP in the endoplasmic reticulum. Gene, v. 618, p. 14–23, 2017.