

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.

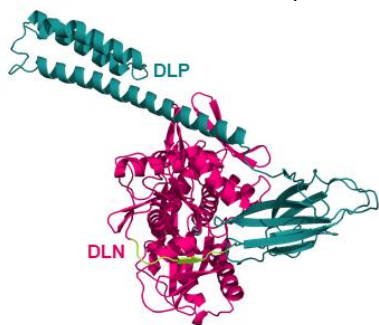


Figura 1: Estrutura 3D da BiP humana (PDB ID: 5E84)

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^{2+} 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 analítica (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.