

Universidade de São Paulo
Instituto de Física de São Carlos

XII Semana Integrada do Instituto de
Física de São Carlos

Livro de Resumos

São Carlos
2022

Semana Integrada do Instituto de Física de São Carlos

SIFSC 12

Coordenadores

Prof. Dr. Osvaldo Novais de Oliveira Junior

Diretor do Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Javier Alcides Ellena

Presidente da Comissão de Pós Graduação do Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo

Profa. Dra. Tereza Cristina da Rocha Mendes

Presidente da Comissão de Graduação do Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo

Comissão Organizadora

Adonai Hilario

Arthur Deponte Zutião

Elisa Goettems

Gabriel dos Santos Araujo Pinto

Henrique Castro Rodrigues

Jeffer Santiago Mares

João Victor Pimenta

Julia Martins Simão

Letícia Martinelli

Lorany Vitoria dos Santos Barbosa

Lucas Rafael Oliveira Santos Eugênio

Natasha Mezzacappo

Paulina Ferreira

Vinícius Pereira Pinto

Willian dos Santos Ribela

Normalização e revisão – SBI/IFSC

Ana Mara Marques da Cunha Prado

Maria Cristina Cavarette Dziabas

Maria Neusa de Aguiar Azevedo

Sabrina di Salvo Mastrantonio

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Informação do IFSC

Semana Integrada do Instituto de Física de São Carlos
(12: 10 out. - 14 out. : 2022: São Carlos, SP.)
Livro de resumos da XII Semana Integrada do Instituto de Física de São Carlos/ Organizado por Adonai Hilario [et al.]. São Carlos: IFSC, 2022.

446 p.

Texto em português.

1. Física. I. Hilario, Adonai, org. II. Título

ISBN: 978-65-993449-5-4

CDD: 530

PG186

Estudo Estrutural da enzima ThiL em patógenos Gram-negativos

FARRO, Erick Giancarlo Suclupe; NASCIMENTO, Alessandro Silva

esuclupef@ifsc.usp.br

A resistência a antibióticos é um problema global e urgente. Uma estimativa feita pela OMS indica que, em 30 anos, teremos em torno de 10 milhões de mortes anuais em decorrência direta de infecções causadas por organismos resistentes a antibióticos. (1) O problema é agravado pelo número limitado de vias/alvos sobre os quais agem os antibióticos atualmente disponíveis. De acordo com Walsh e Wencevicz, (2) os antibióticos atualmente existentes são restritos a apenas cinco alvos/vias de ação. Desta forma, somam-se (i) a difusão de cepas resistentes, (ii) o número decrescente de novos antibióticos ou de moléculas inovadoras, e (iii) o número reduzido de alvos sobre os quais os antibióticos agem. Recentemente, a enzima tiamina fosfato quinase (ThiL) foi validada como um novo alvo para o desenvolvimento de antibióticos contra *Pseudomonas aeruginosa*. Esta enzima faz parte da via de síntese de tiamina (vitamina B1) presente em muitos microrganismos e em plantas, mas ausente em mamíferos. Mostrou-se recentemente que a deleção (ou inibição) da enzima ThiL causa defeitos de crescimento em *P. aeruginosa* e reduz a virulência da bactéria. (3) Neste projeto, propomos um estudo da relação estrutura-função sobre a enzima ThiL em organismos importantes do ponto de vista clínico, dentre os quais *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*. Para esta finalidade os genes para as enzimas ThiL de *K. pneumoniae* (KpThiL) e *E. coli* (EcoThiL) foram sintetizados com otimização de códons para a expressão bacteriana e a metodologia empregada envolve a expressão e purificação por afinidade ao metal e por exclusão por tamanho. Experimentos iniciais de DSF (Differential Scanning Fluorimetry) serão realizados para mapear a interação das enzimas com os substratos visando experimentos de co-cristalização. Os primeiros resultados indicam que as proteínas de KpThiL e EcoThiL são bem expressas em *E. coli* Rosetta, e são purificadas na fração solúvel, com um rendimento médio de 12 e 9 mg/mL respectivamente. Os ensaios com o DSF variando pH e concentração de NaCl sugeriram uma estabilidade máxima em um pH 8.0 e em uma concentração de 700 mM de sal. A mesma técnica também revelou o aumento da estabilidade térmica na presença de Mg²⁺ e ADP. Alguns cristais foram obtidos nos primeiros experimentos, mas ainda não foi possível a obtenção de um conjunto de dados de difração. Até o momento, concluímos que as proteínas são solúveis e obtidas em um rendimento razoável, o que permite prosseguir nos estudos de estrutura-função e, eventualmente, em estudos prospectivos de inibidores potenciais.

Palavras-chave: Estrutura-e-função-de-proteínas. Gram-negativo. Resistência-antibióticos.

Agência de fomento: Sem auxílio

Referências:

1 CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Antibiotic resistance threats in the United States**. 2019. DOI: 10.15620/cdc:82532. Disponível em: <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf>. Acesso

em: 17.01.23.

2 WALSH, C.T.; WENCEWICZ, T.A. Prospects for new antibiotics: a molecule-centered perspective. **Journal of Antibiotics**, v. 67, p. 7–22, 2014. DOI: 10.1038/ja.2013.49.

3 KIM, H. J. *et al.* The ThiL enzyme is a valid antibacterial target essential for both thiamine biosynthesis and salvage pathways in *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 295, p. 10081–10091, 2020. DOI: 10.1074/jbc.ra120.013295.