

Análise dos aspectos estruturais e funcionais da GrpE1 de *Leishmania braziliensis*

Nicole G. Zanin¹, Paulo R. Dores-Silva¹, Júlio C. Borges^{1*}

¹Instituto de Química de São Carlos, Universidades de São Paulo

*borgesjc@iqsc.usp.br

Objetivos

Este trabalho tem como objetivos a expressão da co-chaperona LbmtGrpE1, assim como a caracterização da estrutura desta proteína recombinante e a caracterização funcional da mesma utilizando-se métodos biofísicos de análises como por exemplo dicroísmo circular, cromatografia de exclusão molecular analítica e calorimetria de titulação isotérmica.

Métodos e Procedimentos

A LbmtGrpE1 (pET28a::LbmtGrpE1) foi expressa em *Escherichia coli* cepa BL21(DE3) pela adição de 0,2 mM de IPTG a 30 °C por 4 horas. A purificação foi feita por cromatografia de afinidade ao Ni²⁺ seguida de cromatografia de exclusão molecular. A cauda de polihistidina foi clivada com trombina e a purificação acompanhada por SDS-PAGE. Os estudos estruturais foram realizados por dicroísmo circular (CD) e cromatografia de exclusão molecular analítica (CEMA). A técnica de calorimetria de titulação isotérmica (ITC) foi realizada para verificar a interação entre a LbmtHsp70 e a LbmtGrpE1. A LbmtHsp70 foi obtida como previamente descrito [1].

Resultados

Os ensaios estruturais mostram que a LbmtGrpE1 foi obtida na fração solúvel, enovelada e como um dímero alongado em solução. Os ensaios de ITC foram realizados na temperatura de 20 °C e a interação da LbmtGrpE1 com LbmtHsp70 foi observada com constante de dissociação na ordem de nanomolar, indicando uma alta afinidade entre as proteínas. O coeficiente estequiométrico obtido de 0,72 sugere que a interação ocorra entre um dímero de LbmtGrpE1 para cada monômero de LbmtHsp70. Os parâmetros

termodinâmicos encontrados indicam que a interação é dirigida pela entropia e entalpia.

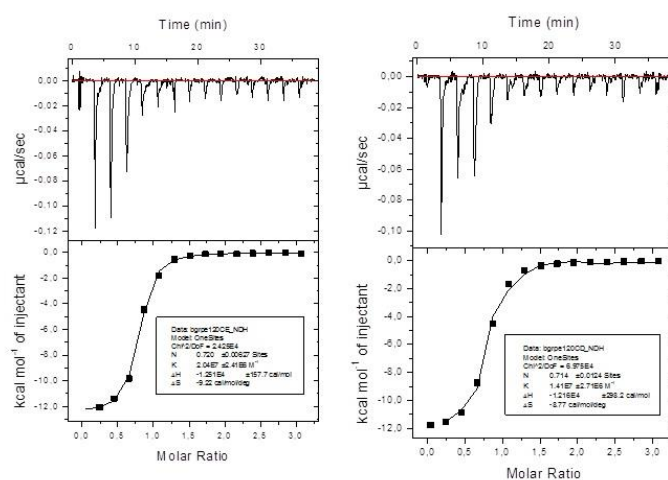


Figura 1 – Interação LbmtGrpE1 com LbmtHs70 monitorado por ITC

Conclusões

Os resultados mostram que o protocolo aplicado para indução e purificação da LbmtGrpE1 permitiu a produção desta de forma pura, solúvel, enovelada e dimérica. Os ensaios de ITC realizados mostram que há interação entre a LbmtGrpE1 e a LbmtHsp70 com alta afinidade e dirigida pela entropia e entalpia.

Referências Bibliográficas

[1] DORES-SILVA, P.R. et al. Structural and functional studies of Hsp70-escort protein – Hep1– of *Leishmania braziliensis*. *International Journal Of Biological Macromolecules*, [s.l.], v. 79, p.903-912, ago. 2015. Elsevier BV.