
Título em Português: EFEITO DA CO-CHAPERONA SGT DE Leishmania braziliensis SOBRE A ATIVIDADE ATPÁSICA DA Hsp70 E Hsp90
Título em Inglês: EFFECT OF THE CO-CHAPERONE SGT FROM Leishmania braziliensis ON THE ATPASE ACTIVITY OF Hsp70 AND Hsp90
Área de Pesquisa: Biologia Molecular
Palavras Chave: Co-chaperona - SGT - Leishmaniose
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:

Autor:

Nome: Ana Beatriz de Freitas Barranco Instituição: Universidade de São Paulo

Orientador:

Nome: Júlio César Borges Instituição: Universidade de São Paulo

Colaborador:

Nome: Paulo Roberto das Dores Silva Instituição: Universidade de São Paulo

Resumo do Trabalho em português:



EFEITO DA CO-CHAPERONA SGT DE *Leishmania braziliensis* SOBRE A ATIVIDADE ATPÁSICA DA Hsp70 E Hsp90

Ana Beatriz F. Barranco¹, Paulo R. Dores-Silva¹, Júlio C. Borges^{1*}

¹Instituto de Química de São Carlos – Universidade de São Paulo

*borgesjc@iqsc.usp.br

Objetivos

Estudo funcional das chaperonas moleculares Hsp70-1A de humano e Hsp90 de *Leishmania braziliensis* (LbHsp90) em presença da co-chaperona SGT do mesmo organismo (LbSGT). Além de investigação do estado oligomérico da LbSGT e interação entre as proteínas LbSGT e Hsp70-1A.

Métodos e Procedimentos

As proteínas LbSGT (pET28a::LbSGT), Hsp70-1A (pET28a:: Hsp70-1A) e LbHsp90 (pET28a::LbHsp90) foram expressas separadamente em *Escherichia coli* cepa BL21(DE3). A indução de cada uma se deu na presença de IPTG a 30 °C por 5~6 horas. A purificação ocorreu por meio de duas técnicas cromatográficas, afinidade ao Ni²⁺ seguida por exclusão molecular [1]. O sucesso da expressão e purificação foi acompanhado por SDS-PAGE. O estudo funcional foi promovido por meio de ensaios de atividade ATPásica de cada uma das chaperonas em presença da LbSGT. Já o estado oligomérico foi atestado por crosslinker, enquanto a interação da LbSGT e Hsp70-1A foi explorada por ultracentrifugação analítica (UA).

Resultados

Os ensaios funcionais sugerem que, para baixas concentrações de LbSGT, há uma tendência de inibição da atividade ATPásica da Hsp70-1A. Contudo, a concentrações mais elevadas da co-chaperona há um estímulo considerável da atividade ATPásica da LbHsp90, atingindo estímulo próximo de 30%. O ensaio de crosslinker permitiu observar que a LbSGT é um dímero. Já para a análise de

formação do complexo entre Hsp70-1A e LbSGT indicam que a interação ocorre na proporção de 1:1.

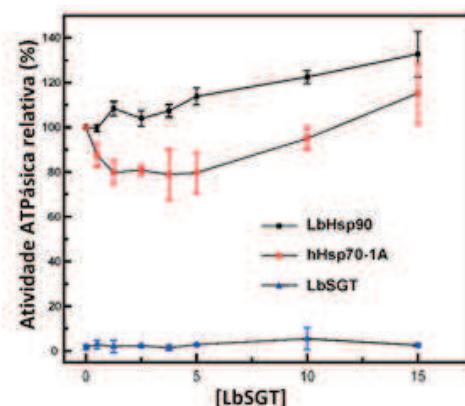


Figura 1. Atividade ATPásica relativa da Hsp70-1A e LbHsp90 em função da concentração de LbSGT.

Conclusões

Os resultados indicam que a co-chaperona LbSGT tem efeito tenuo sobre a capacidade das chaperonas Hsp70-1A e LbHsp90 em hidrolisar ATP, inibindo a hidrólise quando em baixas concentrações e estimulando-a a elevadas concentrações. Também se constatou que a LbSGT é um dímero capaz de interagir com a Hsp70-1A.

Referências Bibliográficas

- [1] COTO, Amanda Laís de Souza. Estudo estrutural e funcional da co-chaperona SGT de *Leishmania braziliensis*. 2016. 51 f. Dissertação – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.