

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

PG167

Prospecção da interface de interação no processo de polimerização da enzima glutaminase C.

ABREU, Flavia Mayumi Odahara de; AMBROSIO, Andre; TANIMOTO, Camila; DIAS, Sandra M. G.

flavia.abreu@usp.br

As vias glicolítica e glutaminolítica se apresentam alteradas no câncer a fim de atender às demandas energéticas e biossintéticas crescentes. A glutamina é um dos nutrientes essenciais para o metabolismo tumoral, sendo convertida em glutamato pelas enzimas glutaminases, codificadas em mamíferos por dois genes distintos, GLS e GLS2. Dentre as isoformas existentes, a glutaminase C (GAC) é crucial, encontrando-se em abundância em diferentes linhagens tumorais. (1) Organizando-se em diferentes estruturas, pode apresentar variações quanto à sua eficiência, sendo o tipo mais ativo caracterizado pela formação de filamentos helicoidais, através do empilhamento lateral dos tetrâmeros da proteína, na presença de fosfato inorgânico (fGAC).(2) No entanto, o mecanismo molecular pelo qual ocorrem a oligomerização e o aumento de atividade da GAC ainda é elusivo; diante desse cenário, este trabalho visa confirmar o modelo proposto previamente por nosso grupo através de estudos estruturais e bioquímicos da proteína selvagem ou modificada em pontos importantes para a polimerização. Para isso, foram planejadas mutações sítio-dirigidas em resíduos localizados nas regiões de interface e do loop de ativação. A GAC selvagem e seus mutantes foram expressos em larga escala de forma heteróloga, em fração solúvel e purificada em três etapas – por cromatografia de afinidade a cobalto, troca iônica (IEC) e cromatografia de exclusão molecular (SEC) –, com confirmação por SDS-PAGE. Por meio de análises de espalhamento de luz dinâmico (DLS), foi possível observar uma mudança da forma tetramérica para oligomérica da proteína selvagem de acordo com a presença de fosfato inorgânico (Pi), enquanto os mutantes mantiveram-se no estado inicial sob as mesmas condições. A eficiência enzimática foi confirmada por ensaios de cinética indiretos baseados em uma reação acoplada, medindo, pela absorção de luz de comprimento de onda 340 nm, a presença de NADH formado durante a conversão do glutamato em α -cetoglutarato pela enzima glutamato desidrogenase (GDH). A análise mostrou que os mutantes também apresentam eficiência reduzida em contraste com a proteína selvagem mesmo na presença de fosfato, com atividade similar à que ocorre na sua ausência. Assim, os dados sugerem que as mutações que impedem a filamentação também são responsáveis por inativar a proteína, confirmando que os resíduos substituídos são críticos para a formação, estabilização e função da fGAC. A compreensão sobre esse mecanismo pode estabelecer a enzima Glutaminase C como um alvo molecular promissor para o desenvolvimento de novas terapias antitumorais.

Palavras-chave: Glutamina. Glutaminase. Enzimas.

Agência de fomento: CAPES (88887.474257/2020-00)

Referências:

1 CASSAGO, A. *et al.* Mitochondrial localization and structure-based phosphate activation mechanism of Glutaminase C with implications for cancer metabolism. **Proceedings of the National Academy**

of Sciences of the United States of America ,v. 109, n. 4, p. 1092–1097, 2012.

2 FERREIRA, A. P. S. *et al.* Active glutaminase C self-assembles into a supratetrameric oligomer that can be disrupted by an allosteric inhibitor. **Journal of Biological Chemistry** ,v. 288, n. 39, p. 28009–28020, 2013.