

Estruturas cristalográficas de potencias alvos enzimáticos da via de salvação de purinas do parasita *Schistosoma mansoni*

Larissa Romanello¹, Juliana Roberta Torini de Souza¹, Louise Bird³, Joanne Nettleship³, Raymond Owens³, Yamini Reddivari³, José Brandão-Neto², Humberto D'Muniz Pereira¹.

1- Laboratório de Biologia Estrutural, IFSC, USP; larissa.romanello@usp.br

2- Diamond Light Source. Harwell Science and Innovation Campus Didcot. Oxfordshire;

3- Oxford Protein Production Facility UK, Dicot, Oxfordshire.

Palavras Chave: via salvação de purinas, *Schistosoma mansoni*, cristalografia de proteínas.

Introdução

O *Schistosoma mansoni*, parasita responsável pela esquistossomose, doença que afeta cerca de 300 milhões de pessoas em todo mundo, não possui a via de síntese de purinas, dependendo integralmente da via de salvação de purinas para seu suprimento dessas bases, então esta via tem sido citada como alvo potencial para o desenvolvimento de novos fármacos contra a doença. As enzimas hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase (HGPRT) e adenilosuccinato liase (ADSL) são enzimas chave desta via. A HGPRT catalisa a fosforibosilação reversível de hipoxantina e guanina para IMP ou GMP e ADSL hidrolisa adenilosuccinato em fumarato e AMP.

Objetivo: Este trabalho faz parte de um projeto maior que visa a obtenção de todas as estruturas das enzimas envolvidas na via de salvação de purinas de *Schistosoma mansoni*.

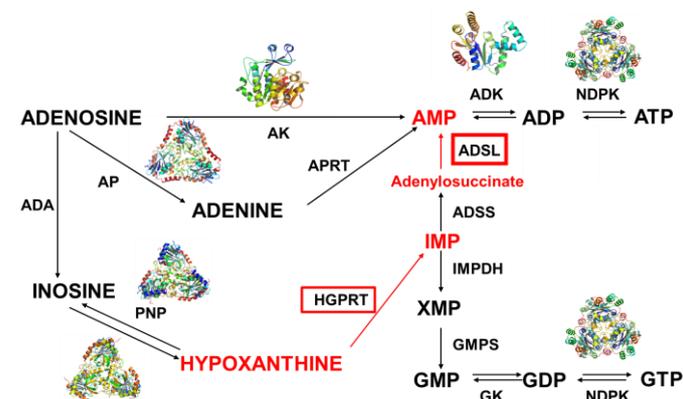


Figura 1. Via de salvação de adenosina.

Resultados e Discussão

O cDNA correspondente às enzimas foi amplificado e clonado no vetor de expressão pOPIN, as enzimas foram expressas em *E. coli* Lemo21(DE3), purificadas em coluna de cobalto agarose por afinidade, concentradas e cristalizadas no kit de cristalização Morpheus (Molecular Dimensions) no Oxford Protein Production Facility (OPPF) em Harwell - UK.

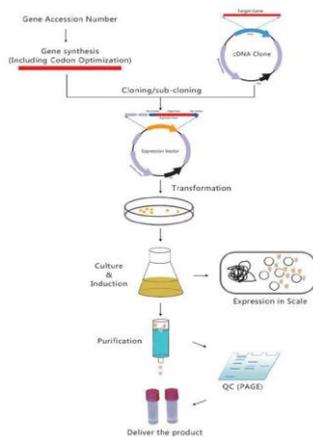


Figura 2. Clonagem e expressão.

A coleta de dados por difração de raio-X foi realizada no Síncrotron Diamond Light Source (DLS) na Inglaterra. A estrutura de ADSL foi coletada a 2.36Å e após o refinamento tem valores de R e R_{Free} de 19.38 e 23.24% e a de HGPRT 2.97Å ainda em fase de refinamento. Ambas estruturas são tetraméricas, sendo ADSL quase completamente composta de α-hélices.

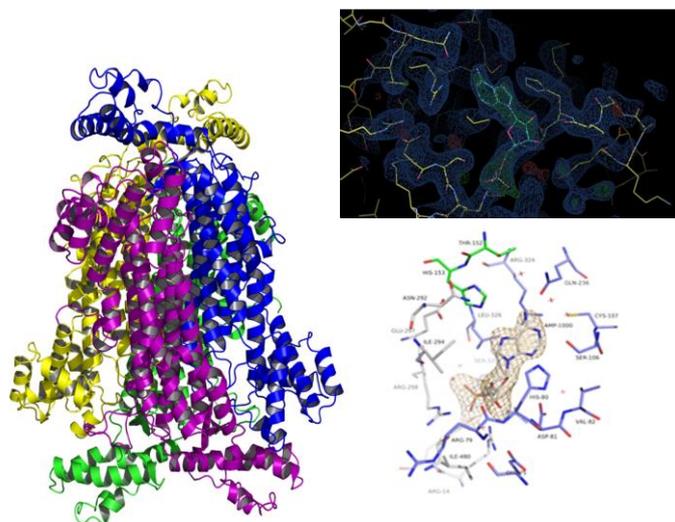


Figura 3. A. Estrutura tetramérica da enzima ADSL. B. Densidade eletrônica para o ligante AMP. C. Ligante AMP e interações no sítio ativo.

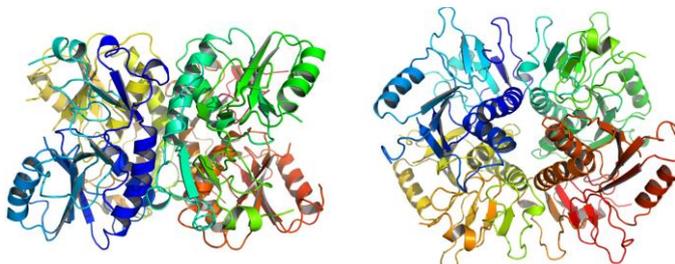


Figura 4. Estrutura tetramérica da enzima HGPRT.

Conclusões

A obtenção das estruturas pode contribuir para o entendimento de como o parasita pode ser seletivamente privado de recursos, o que pode ser usado para o desenvolvimento de novas drogas e/ou vacinas contra este importante parasita.

Agradecimentos

FAPESP e CNPq.

67ª Reunião Anual da SBPC