

VARREDURA DIFERENCIAL POR FLUORIMETRIA PARA ESTABILIZAÇÃO DA PROTEÍNA ADENOSINA KINASE (ISOFORMA 1) DE *Schistosoma mansoni* (APOIO CNPq)

Aluna: Stefânia de Oliveira André

Orientadora: Profa. Dra. Juliana Roberta Torini

Curso: Biomedicina

Campus: Araraquara

A esquistossomose mansoni é uma das doenças parasitárias que mais causa mortes em países em desenvolvimento e recebe pouca atenção da indústria farmacêutica. O *S. mansoni* não possui a via de novo para a biossíntese de bases púricas e depende integralmente da via de salvação para o suprimento destas. Dentre as enzimas presentes nessa via, há duas isoformas da enzima Adenosina Kinase (AK), sendo que apenas a isoforma 2 teve sua estrutura determinada. Essa enzima converte adenosina em adenosina monofosfato (AMP). Neste trabalho, a enzima AK1 foi expressa em *E. coli* Rosetta transformada com plasmídeo pOPINF e purificada por cromatografia de afinidade em coluna de cobalto. Como não houve purificação satisfatória, realizou-se uma cromatografia por exclusão molecular em coluna Superdex 200. As frações mais puras da proteína foram concentradas em concentrador tipo Amicon[®] com corte de 30 KDa. Realizaram-se então ensaios de DSF em termociclador Real-Time com fluoróforo SYPRO Orange, realizou-se um *screening* de condições utilizando o kit Morpheus[®]. Observou-se estabilidade da proteína em dez das 96 condições testadas, a maioria destas apresentaram em comum 0,1 M de MES em pH 6,5 e 10% de polietilenoglicol em sua composição, a proteína foi então dialisada nesse tampão e submetida a ensaios de cristalização na presença de 10 mM de Adenosina e 10 mM de AMP, utilizou-se o robô Crystal Gryphon e as soluções foram mantidas a 19°C. Não foi observada cristalogênese da enzima AK1. Apesar de ainda não se obter cristais dessa enzima, a determinação de uma condição estável permitirá

a realização de ensaios cinéticos futuros que possibilitarão a determinação funcional dessa isoforma.