

# **VARREDURA DIFERENCIAL POR FLUORIMETRIA PARA A ESTABILIZAÇÃO DA PROTEÍNA GUANILATO KINASE DE *Schistosoma mansoni* (APOIO UNIP)**

**Aluno:** Anderson Souza Dantas

**Orientadora:** Profa. Dra. Juliana Roberta Torini

**Curso:** Biomedicina

**Campus:** Araraquara

Fatores como pobreza e baixo desenvolvimento econômico favorecem o aparecimento de doenças parasitárias como a esquistossomose, que recebem pouca ou nenhuma atenção das indústrias farmacêuticas para o desenvolvimento de terapias. A obtenção de nucleotídeos púricos se dá por duas vias metabólicas: a via “de novo” e a “de salvação”. O parasita *Schistosoma mansoni* depende integralmente da via de salvação e, por isso, as enzimas dessa via são alvos importantes a serem explorados. A enzima Guanilato Kinase (GK) faz parte dessa via e é responsável pela conversão de guanosina monofosfato em guanosina difosfato, tendo sido validada como alvo antiviral. Neste trabalho, a enzima *SmGK* foi satisfatoriamente expressa em *E.coli* B834 transformada com o plasmídeo pOPINF, purificada por cromatografia de afinidade em coluna de cobalto e, em seguida, clivada para a retirada da cauda de histidinas. Por meio de ensaios de DSF, realizados em termociclador Real-Time com fluoróforo SYPRO Orange e kit MD1-96 RUBIC, observou-se que em condições contendo fosfato de sódio com pH variando entre 6,0 e 7,5 foi alcançada estabilidade proteica. Após ser dialisada em tampão contendo esse composto, a *SmGK* foi submetida a ensaios de cristalização no robô Crystal Gryphon. Realizou-se um *screening* de condições com o kit Morpheus<sup>®</sup> e manteve-se as soluções a 18°C. Após 20 dias, observou-se a formação de pequenos cristais em formato de agulhas com ~1 µm. Por serem muito pequenos e frágeis, não foi possível submetê-los à difração de raios X, no entanto, agora será possível realizar manualmente ajustes finos para obter a cristalogênese dessa proteína.