

VARREDURA DIFERENCIAL POR FLUORIMETRIA PARA A ESTABILIZAÇÃO DA PROTEÍNA NUCLEOSÍDEO DIFOSFATO KINASE ISOFORMA 2 DE *Schistosoma mansoni* (APOIO UNIP)

Aluna: Érika Fermino Semensi

Orientadora: Profa. Dra. Juliana Roberta Torini

Curso: Biomedicina

Campus: Araraquara

As doenças parasitárias são uma das maiores causas de morte em países em desenvolvimento, mas recebem pouca atenção das indústrias farmacêuticas. O *Schistosoma mansoni* não possui a “via de novo” para a biossíntese de bases púricas e depende integralmente da “via de salvação”. Os objetivos deste projeto foram expressar, purificar e determinar condições de estabilidade enzimática da enzima NDPK2, visando à realização de ensaios estruturais e de atividade para esta proteína que é responsável pela transferência reversível do grupo γ -fosforil de um nucleosídeo trifosfato para um nucleosídeo difosfato. Para a expressão da proteína utilizamos o meio de cultura *Power BrothTM* suplementado com 1 $\mu\text{g/mL}$ de ampicilina e 2,5 $\mu\text{g/mL}$ de clorafenicol e induzido com IPTG. Obtivemos uma expressão satisfatória. Para a purificação, foi utilizado método de cromatografia de afinidade com a coluna de cobalto Co-NTA agarose da Qiagen. Houve precipitação da proteína de interesse, que pode ser atribuída a vários fatores. Foi feita clivagem com protease e realizada uma cromatografia reversa em coluna de níquel para tentar isolar a porção que foi clivada. Após a purificação reversa dialisamos e concentramos a porção clivada. Durante a diálise observou-se a precipitação da proteína. Optou-se, então, pela troca do tampão Fosfato pelo tampão Tris para deixar a proteína mais estável, no entanto, sem resultados. Acompanhamos a concentração da proteína por meio de medidas realizadas no NanoDrop e observamos uma diminuição da concentração. Mas, se pensarmos que o trabalho realizado serve de parâmetro para outros estudos, teremos maior capacidade para superar os desafios.