

Estudos estruturais de proteínas usando luz síncrotron

Pesquisador responsável: [Igor Polikarpov](#)   

Beneficiário: [Igor Polikarpov](#)   

Instituição-sede da pesquisa: [Instituto de Física de São Carlos \(IFSC\). Universidade de São Paulo \(USP\). São Carlos, SP, Brasil](#)

Pesquisadores principais: [Jörg Kobarg](#)

Área do conhecimento: [Ciências Biológicas](#) - [Biofísica](#) - [Biofísica Molecular](#)

Linha de fomento: [Auxílio à Pesquisa - Temático](#)

Processo: 99/03387-4

Vigência: 01 de outubro de 1999 - 30 de setembro de 2005

Bolsa(s) vinculada(s): [05/53931-5 - Dinâmica molecular dos mecanismos de dissociação do hormônio estrógeno de seu receptor nuclear](#), BP.PD
[05/53853-4 - Estudos de oligomerização de receptores nucleares através da técnica de Espalhamento de Raios-X a Baixo Ângulo \(SAXS\)](#), BP.IC
[05/51352-8 - Estudos estruturais de proteínas usando luz síncrotron](#), BP.TT
+ mais bolsas vinculadas

Assunto(s): [Cristalografia](#) [Difração de raios X](#) [Macromolécula](#) [Radiação síncrotron](#)

Resumo

Até o presente momento a cristalografia macromolecular é o método mais poderoso e também o mais utilizado para a solução de estrutura tridimensional de proteínas e ácidos nucleicos com resolução atômica ou quase atômica. Estas estruturas tridimensionais estão contribuindo na compreensão de vários processos presentes nas células vivas, tais como catalização enzimática, resposta imunológica, infecção viral, divisão celular, transferência de informação genética, entre outros. Além disso, o conhecimento das estruturas das proteínas é essencial para o desenho de novas drogas e modificações de proteínas através da engenharia genética. O Brasil é único país do Hemisfério sul que possui síncrotron com linha de luz dedicada a cristalografia de proteínas. A linha de luz que começou a funcionar cerca de um ano e meio atrás, apresenta o fluxo de raios-X bastante elevado e já serviu para realização de mais de 60 diferentes projetos cristalográficos do Brasil e de outros países como Argentina, México, Rússia, Alemanha, Austrália e Estados Unidos. O interesse principal deste projeto é o desenvolvimento de métodos e equipamentos específicos ao estudo de cristalografia de proteínas com luz síncrotron, bem como a otimização destes métodos para condições de coleta de dados na linha de cristalografia de proteínas do LNLS. Isto tornaria mais fácil e mais rápido a determinação da estrutura tridimensional (3D) de moléculas de proteínas para a compreensão das suas funções. Otimização de coleta de dados nativos e derivados, incluindo técnicas de substituição isomorfa múltipla/simple com espalhamento anômalo (MIRASISIRAS) e difração anômala à único/múltiplos comprimento(s) de onda (SADIMAD), será aplicada no caso de quinze projetos estruturais diferentes. Estes sub-projetos serão resolvidos usando o métodos de substituição molecular (II.1, II.2, II.5- II.8, II.12- II.15 e, possivelmente, II.4), técnicas de substituição isomorfa e difração anômala (II.3, II.4, II.9- II.11). Estudos estruturais com resolução atômica serão realizados dentro do sub-projeto II. 14, e possivelmente outros sub-projetos. Técnicas crio-cristalográficas estão sendo otimizadas para uso na linha de cristalografia de proteínas do LNLS e serão plenamente usadas durante de execução do projeto. Sub-projetos estruturais estão direcionados para estudos de proteínas relacionadas com problemas de saúde humana (II. 1, II.3, II.4, II.6), infecção viral (II.5), tratamento de câncer (II.2), processos inflamatórios (II.7), envenenamento (II.14, II.15); aplicações industriais (II.9- II.11); estudos biológicos de proteínas glicosiladas (H. 1, 11. 8-H.11) e proteínas da via glicolítica (11. 12, H. 13). As proteínas em estudo variam de pequeno peptídeo não-glicosilado (7.5kDa) a moléculas grandes e pesadamente glicosiladas (~100 kDa, 15% de glicosilação). As técnicas de luz síncrotron são o pivô e o elo de ligação dos

projetos. Muitos deles seriam difíceis ou, as vezes impossíveis, de serem realizados sem uso de luz síncrotron. Desenvolvimento de técnicas modernas de uso de luz síncrotron aplicadas à biologia molecular estrutural e testes rigorosos das mesmas durante execução de grande número de projetos estruturais aumentará significativamente a velocidade e qualidade de coleta de dados e resolução das estruturas. Isto criará a base para futuros projetos de genoma estrutural e desenho racional de fármacos. Os avanços técnicos e tecnológicos alcançados durante a execução deste projeto beneficiarão toda a comunidade cristalográfica do Brasil e Mercosul. A riqueza de informação estrutural coletada neste projeto poderá sugerir novas soluções para problemas relacionados a saúde humana, medicina e aplicações industriais. O projeto temático está dividido em duas partes: estudos metodológicos e estudos estruturais. Na parte dos estudos metodológicos prevemos otimizar os métodos de coleta de dados de difração dos cristais nativos e derivados com luz síncrotron, visando particularmente resolução das estruturas inéditas. Na parte dos estudos estruturais apresentamos 15 propostas de pesquisa de determinação das várias estruturas protéicas de interesse biológico. (AU)

PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS (5)

(Referências obtidas automaticamente do Web of Science e do SciELO, por meio da informação sobre o financiamento pela FAPESP e o número do processo correspondente, incluída na publicação pelos autores)

KRAUCHENCO, SANDRA; MARTINS, NADIA H.; SANCHES, MARIO; POLIKARPOV, IGOR. [Effectiveness of commercial inhibitors against subtype F HIV-1 protease](#). *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, v. 24, n. 3, p. 638-645, 2009. Citações Web of Science: 4.

NASCIMENTO, ALESSANDRO S.; KRAUCHENCO, SANDRA; GOLUBEV, ALEXANDER M.; GUSTCHINA, ALLA; WLODAWER, ALEXANDER; POLIKARPOV, IGOR. [Statistical coupling analysis of aspartic proteinases based on crystal structures of the Trichoderma reesei enzyme and its complex with pepstatin A](#). *Journal of Molecular Biology*, v. 382, n. 3, p. 763-778, Oct. 2008. Citações Web of Science: 5.

MATOZO, H.C.; SANTOS, M.A.M.; DE OLIVEIRA NETO, M.; BLEICHER, L.; LIMA, L.M.T.R.; IULIANO, R.; FUSCO, A.; POLIKARPOV, I. [Low-Resolution Structure and Fluorescence Anisotropy Analysis of Protein Tyrosine Phosphatase \[eta\] Catalytic Domain](#). *BIOPHYSICAL JOURNAL*, v. 92, n. 12, p. 4424-4432, 2007.

ROJAS, A. L.; NAGEM, R. A. P.; NEUSTROEV, K. N.; ARAND, M.; ADAMSKA, M.; ENEYSKAYA, E. V.; KULMINSKAYA, A. A.; GARRATT, R. C.; GOLUBEV, A. M.; POLIKARPOV, I. [Crystal structures of beta-galactosidase from Penicillium sp. and its complex with galactose](#). *Journal of Molecular Biology*, v. 343, n. 5, p. 1281-1292, Nov. 2004.

KRAUCHENCO, S.; NAGEM, R.A.P.; DA SILVA, J.A.; MARANGONI, S.; POLIKARPOV, I. [Three-dimensional structure of an unusual Kunitz \(STI\) type trypsin inhibitor from *Copaifera langsdorffii*](#). *Biochimie*, v. 86, n. 3, p. 167-172, 2004.