

Interação entre a Hsp90 Humana e a Curcumina

Carolina Colleti¹; Fernanda A. H. Batista²; Júlio C. Borges³; Carlos H. I. Ramos⁴; Lisandra M. Gava⁵.

1. Estudante de IC da Universidade Federal de São Carlos; *carolcolleti@gmail.com
2. Pesquisadora do Instituto de Química, USP, São Carlos/SP
3. Professor/ Pesquisador do Instituto de Química, USP, São Carlos/SP
4. Professor/ Pesquisador do Instituto de Química, UNICAMP, Campinas/SP
5. Professora/ Pesquisadora do Depto. De Genética e Evolução, UFSCar, São Carlos/SP

Palavras Chave: Hsp90; Chaperonas Moleculares; Câncer.

Introdução

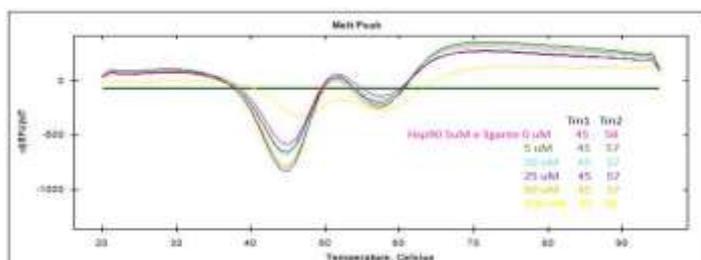
A Hsp90 (*Heat Shock Protein* de 90 kDa) é uma chaperona molecular homodimérica, onde cada monômero possui três domínios: o domínio N-terminal, de ~30 kDa que possui um sítio de ligação de ATP; o domínio intermediário, de ~35 kDa que participa da hidrólise do ATP juntamente com o N-terminal, e liga proteínas clientes; e o domínio C-terminal, de ~25 kDa que é responsável pela dimerização.

A Hsp90 está envolvida em diversos processos essenciais para a célula e participa na estabilidade e função de diversas proteínas, incluindo oncoproteínas e proteínas relacionadas a neuropatias, despertando grande interesse como alvo terapêutico. Neste contexto, a busca por inibidores/estimuladores da atividade da Hsp90 torna-se importante para o desenvolvimento de novos tratamentos contra importantes patologias.

A curcumina é um polifenol de cor amarela/ laranja, presente na cúrcuma ou açafrão da Índia (*Curcuma longa*). Estudos sugerem que a curcumina liga-se as chaperonas moleculares Hsp70 e Hsp90, inibindo a atividade dessas proteínas. Além disso, a curcumina interfere na funcionalidade da Hsp90 em processos relacionados a estabilidade do genoma em células de câncer, como a regulação da telomerase. Nesse sentido, faz-se uma investigação mais detalhada acerca dessa interação com a Hsp90. Esse trabalho teve como objetivo estudar a interação da Hsp90 com o inibidor curcumina através de ensaios de calorimetria de titulação isotérmica e *protein thermal shift* ou fluorimetria diferencial de varredura.

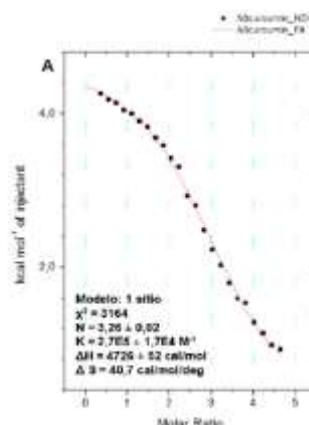
Resultados e Discussão

Os testes para avaliar a interação entre a Hsp90 humana e a curcumina foram feitos por meios de técnicas de ITC (Calorimetria de Titulação Isotérmica) e *Protein Thermal Shift* - PTS.



Ensaio de PTS da Hsp90 e curcumina. Desnaturação térmica da Hsp90 na concentração de 5 µM sem ligante e com ligante (nas concentrações de 5, 10, 25, 50 e 100 µM), ambos em presença de DMSO.

Como pode ser observado a curcumina exerce efeito sob a estabilidade da Hsp90, os dados mostram esse efeito sobre proteína apenas em concentração mais alta de ligante, como a de 100 µM, vale ainda destacar que o efeito foi observado apenas na primeira T_m da Hsp90, que foi de 45°C para 47°C, que corresponde justamente a T_m do N-terminal da proteína, corroborando o que já foi sugerido na literatura de que a interação entre proteína e ligante ocorre nesse domínio.



Ensaio de ITC para o complexo N-Hsp90:curcumina. (A) Titulação da curcumina (0,312 mM) em 0,013 mM de proteína, ambos em tampão Tris-HCl, pH 8,0 em 6,25% de DMSO.

Pelos ensaios de ITC foi encontrado um modelo de interação que descreve uma reação do tipo endotérmica (que envolve a absorção de calor) com uma ΔH positiva, ou seja, nesse caso trata-se de uma interação entalpicamente desfavorável, embora seja entropicamente favorável, sempre com a variação de entropia positiva. Como pode ser visto na figura.

Conclusões

Ensaio de ITC sugerem que a interação da curcumina com a Hsp90 é dirigida entropicamente, a interação ocorre com a k_a de $2,7 \times 10^5 M^{-1}$ e é endotérmica.

Os experimentos de Protein Thermal Shift indicam que a ligação da curcumina a Hsp90 ocorre via N-terminal e com altas concentrações de ligante.

Agradecimentos

