

Estudo da separação de fase líquido-líquido de proteínas chaperonas em ausência e presença de proteínas alvo: uma abordagem estrutural e dinâmica



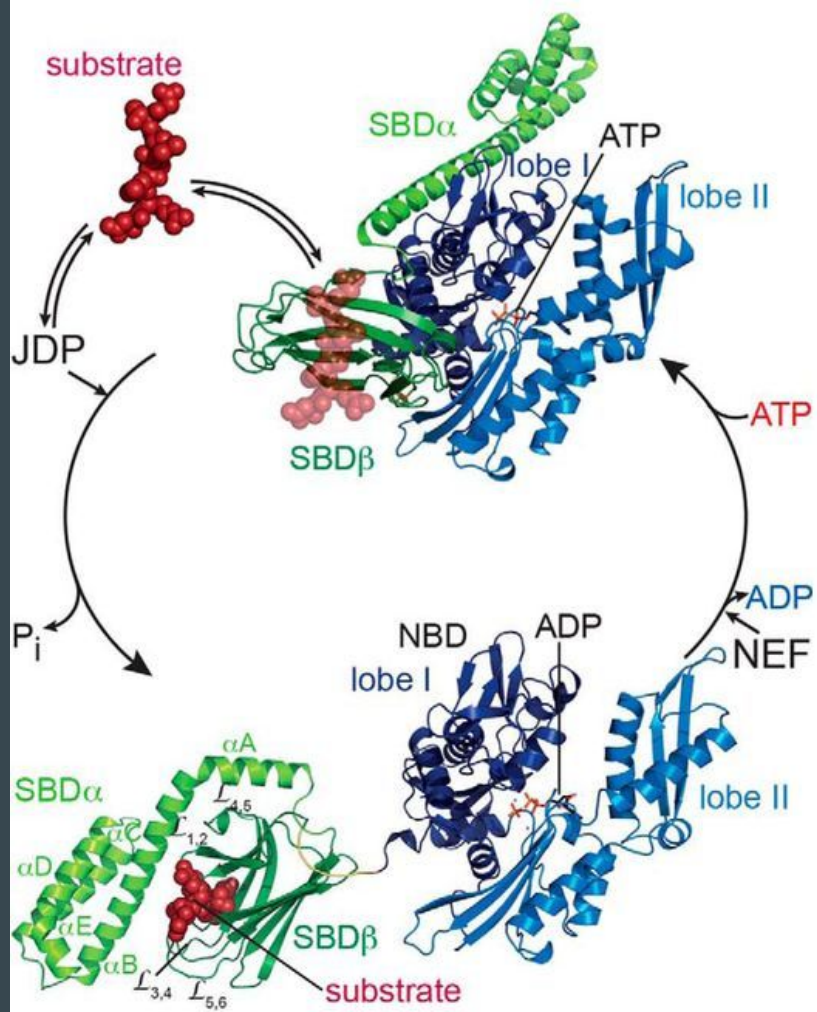
Amanda Santos Palma
Prof. Leandro Ramos Souza Barbosa

Heat Shock proteins

- são proteínas chaperonas super-expressadas quando a célula é submetida ao estresse térmico
- Hsp70: possui domínios de ligação na região N-terminal (hidrolisa ATP) e C-terminal (ligação com proteínas clientes)
- Hsp40: atua em conjunto com a Hsp70, aumentando a taxa de hidrólise de ATP (também atua como reguladora)
- Hsp90: presente em processos como apoptose celular e diferenciação. Opera em um ciclo com três estados conformacionais

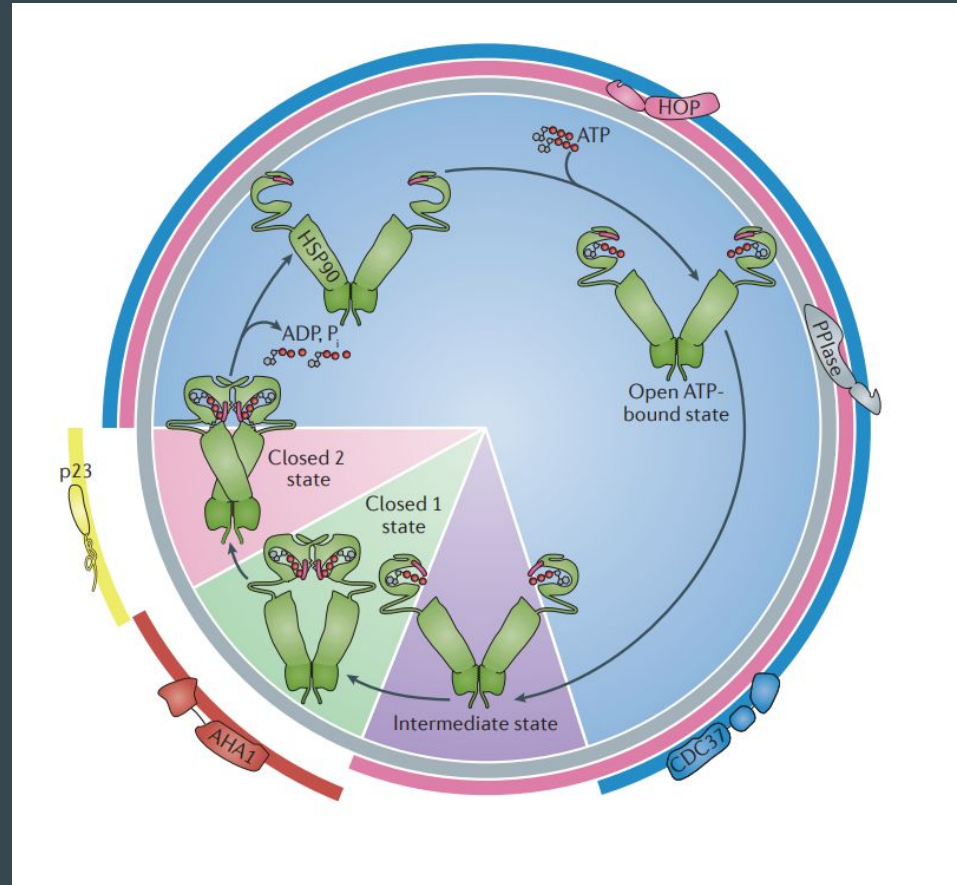
Heat Shock proteins

Modelo para o ciclo de funcionamento das Hsp70



Heat Shock proteins

Modelo para o ciclo de funcionamento das Hsp90



Separação de fase líquido-líquido (LLPS)

- fundamental para o funcionamento da célula
- compartimentalização sem membrana lipídica (*membraneless organelles*)
- não é um agregado proteico
- exemplo: centrossomos e *stress granules*

P53

- proteína supressora de tumores
- detecta estresse celular e limita a proliferação da célula
- induz apoptose celular
- também atua em reparos do DNA
- p53 e outras proteínas sofrem separação de fase líquido-líquido e o mau funcionamento delas pode levar esses droplets a se transformarem em agregados proteicos, levando à formação de fibras amilóides

P53

Link to protein	p53 MED1
Components	protein(2)
Protein structure	IDR-fold + IDR
Nucleic acid(s)	-
Modification	[p53]_WT;[MED1 IDR]_Cleaved
Sequence length	p53:393aa(1-393) MED1_m:627aa(948-1574)

Phase separation conditions

Solute concentration	Salt concentration	Buffer	Crowding agent	Pressure	Temperature	Incubation time	Others	Detection method	Phase separation	Morphology
10 μ M [p53]; 10 μ M [MED1 IDR]	125 mM NaCl	50mM Tris-HCl pH 7.5, 10% glycerol, 1mM	10% PEG- 8000	-	RT	N/A	-	Microscopy;FRAP	Yes	liquid droplet

Objetivos

- Estudar a formação de LLPS das proteínas chaperonas em diferentes condições (temperatura, pH, ...)
- Estudar a formação de tais estruturas na presença da proteína p53 para verificar qual é o papel das chaperonas na formação de LLPS de p53

Técnicas a serem usadas

- SAXS
- Crio-TEM
- DWS (diffusing wave spectroscopy)
- XPCS (x-ray photon correlation spectroscopy)

Obrigada!