



B0460

### **CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DA FOSFATASE CDC-25B COM VISTAS AO DESENVOLVIMENTO DE INIBIDORES COM POTENCIAL APLICAÇÃO EM TERAPIAS ANTICÂNCER**

Thayane Previdelli (Bolsista PIBIC/CNPq), Valéria Scorsato, Mariana Pereira Dias, Natália Laís Bazzo, Daniela Barretto B. Trivella e Prof. Dr. Ricardo Aparicio (Orientador), Instituto de Química - IQ, UNICAMP

De acordo com estudos recentes, algumas proteínas fosfatases são superexpressas em diversos tipos de cânceres humanos, e há correlação entre os níveis da fosfatase com a agressividade do tumor e o mau prognóstico. A CDC-25B humana é um membro da família das tirosinas fosfatases. Esta proteína está envolvida em vias de sinalização que controlam a taxa de divisão celular e encontra-se superexpressa em diversos tipos de tumores. Desta forma, a inibição desta enzima é considerada uma estratégia atraente para o desenvolvimento de novas terapias anticâncer. Neste trabalho, a CDC-25B recombinante foi obtida a partir técnicas de biologia molecular, com expressão em células de E.coli (BL21D3), purificação por cromatografia de afinidade em coluna de níquel-agarose, seguida de clivagem da cauda de histidina presente na construção do vetor e um último passo de purificação em coluna de exclusão por peso molecular. Foram realizados ensaios de inibição com diversas famílias de compostos fornecidos por colaboradores, com o objetivo final de obter-se a estrutura cristalográfica de complexos entre enzima e inibidor. A melhor condição de cristalização obtida consistiu-se da utilização do método de gota sentada em solução contendo  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (1.6M-2.1M), NaCl 500mM, Tris 100mM pH7,0-8,5 e  $\beta$ -mercaptoetanol (0,25%). Conjuntos de dados foram coletados e estruturas cristalográficas foram resolvidas, no entanto, até o momento, não se observou densidade eletrônica próxima ao sítio ativo da enzima, indicando que o composto sob avaliação não se ligou à enzima nas condições de cristalização utilizadas. Este trabalho está em andamento e já contribuiu para a obtenção de protocolos de expressão, purificação e cristalização da fosfatase CDC-25B. Aqui serão reportados ensaios de inibição realizados por técnicas colorimétricas, resultados da expressão, purificação e determinação das estruturas cristalográficas obtidas.

Câncer - Inibidores de fosfatase - Biologia estrutural