

Análise da Ligação de ATP e ADP no Domínio AR da Enzima GlnE de *Herbaspirillum seropedicae*

Eduardo Sabatine Lopes^{1*}, Larissa Fonseca Tomazini¹, Marco Aurelio Schüler de Oliveira¹

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Bioquímica, Maringá-PR¹
edusabatine@gmail.com*

Introdução

A enzima bifuncional GlnE é responsável pela regulação pós-traducional da enzima Glutamina Sintetase (GS), em resposta aos níveis de nitrogênio intracelulares (Fig.1). Como as atividades de GlnE são opostas, é necessária uma regulação fina para evitar um ciclo fútil. Anteriormente, nós demonstramos que a atividade removedora (AR) de GlnE é estritamente regulada pela razão ATP/ADP em *Herbaspirillum seropedicae*, uma bactéria diazotrófica promotora do crescimento vegetal (dados não publicados).

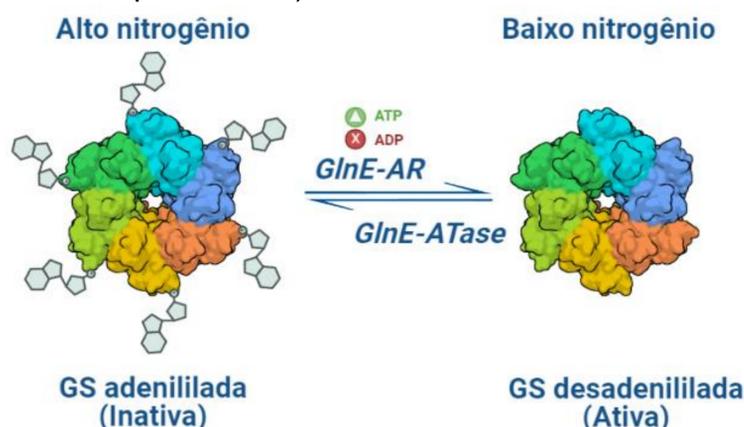


Figura 1. Desadenilação de GS por GlnE. Em condições de baixo nitrogênio GlnE desadenilila GS; em condições de alto nitrogênio, GlnE adenilila GS. A adenilação diminui a atividade de GS.

Objetivos

Caracterizar a interação de ATP e ADP com o domínio AR de GlnE de *H.seropedicae* utilizando Fluorimetria Diferencial de Varredura (DSF).

Metodologia

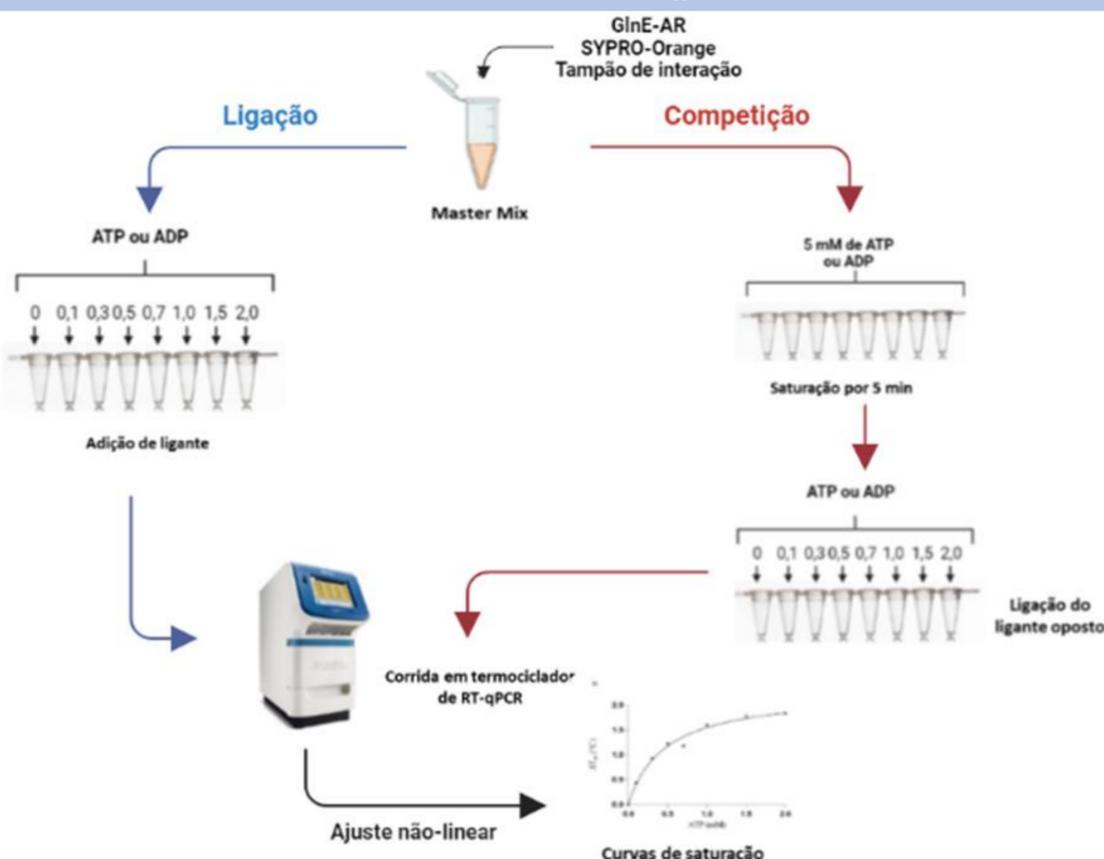


Figura 2. Desenho experimental de DSF para análise da interação de ATP e ADP o domínio AR de GlnE. Para os experimentos de DSF foi utilizada uma versão truncada de GlnE correspondente ao domínio AR isolado (GlnE-AR).

Resultados

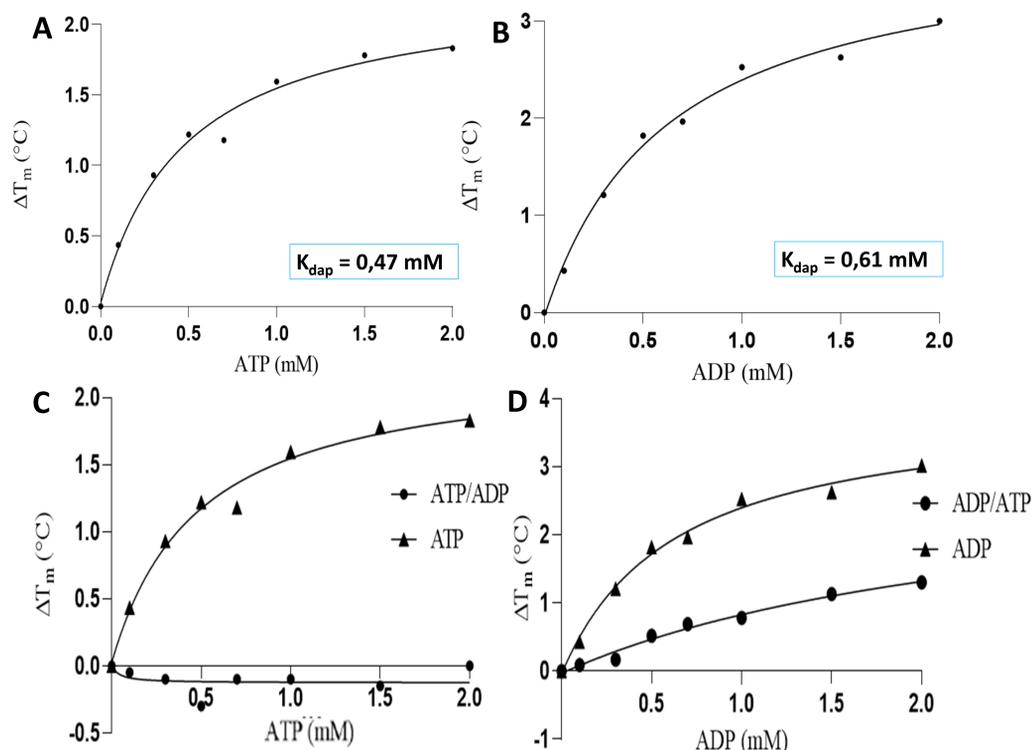


Figura 3. Interação de ATP e ADP com o domínio AR de GlnE. As curvas de saturação A e B indicam a interação de ATP e ADP com o domínio AR, respectivamente. A ligação de ATP tem um K_d aparente (K_{dap}) de 0.47 mM, enquanto que a ligação de ADP mostrou um valor de 0.61 mM. Os gráficos C e D mostram a competição entre ATP e ADP. Quando GlnE-AR foi saturada com 5 mM de ADP, a ligação de ATP foi abolida (C). A saturação com 5 mM de ATP não impediu completamente a ligação de ADP (D).

Conclusões



Figura 4. Modelo de interação do ATP e ADP em GlnE-AR. O domínio AR possui um sítio regulatório sensível a razão ATP/ADP, portanto ATP e ADP competem pela ligação a esse sítio. Os valores de K_d aparente encontrados indicam a maior afinidade para ligação de ATP em relação ao ADP. Além disso, o ADP é produto da reação de desadenilação, logo também pode se ligar ao sítio ativo.

Referências

- Niesen, F. *et al* **Nature Protocols** v.2 p.2212-2221, 2007
Vivoli, H. *et al* **J. Vis. Exp.** v.91, p.1-13, 2014
Arcondeguy, T. *et al* **Microbiol. Mol. Biol. Rev.** v. 65, p. 80-105, 2001.

Agradecimentos