

# Síntese de Derivados de Tio- $\beta$ -galactopiranosídeos como Indutor em Sistemas de Expressão de Proteínas que Utilizam o “lac- operon”

Jorge L. Humberto<sup>1</sup>(PQ)\*, Thais H. A. da Silva<sup>2</sup>(PQ). [jorgedeq@iceb.ufop.br](mailto:jorgedeq@iceb.ufop.br)

1-Universidade Federal de Ouro Preto, Departamento de Química, ICEB, Campus Universitário, Morro de Cruzeiro, Ouro Preto, Minas Gerais, CEP 35400.000. 2- Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Pampulha, Belo Horizonte, 31270-901.

Palavras Chave: IPTG, lac operon, Proteínas.

## Introdução

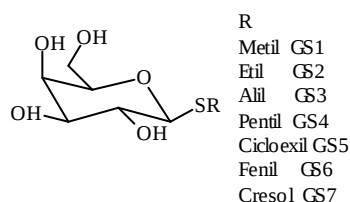
Atualmente, o operon da lactose responsável pelo controle da expressão da  $\beta$ -galactosidase, permease e acetilase já está completamente elucidado e tem sido amplamente utilizado em sistemas de expressão de proteínas heterólogas em sistemas plasmidiais bacterianos e até mesmo de mamíferos<sup>1</sup>. Todos esses plasmídeos, principal-mente bacterianos, utilizam a seqüência do lac-operon (uma região do DNA denominada lac-operon, que regula a produção de uma proteína) para a expressão de uma proteína recombinante de interesse. A expressão dessa proteína é normalmente induzida pela adição de uma molécula glucídica não metabolizada denominada tio-galactopiranosídeo de isopropila (IPTG). O IPTG se liga especificamente à proteína repressora levando à diminuição de sua afinidade pela região promotora/operadora do operon da lactose.. O IPTG representa hoje um dos indutores mais utilizados nos mais diversos sistemas de alta expressão. Apesar de sua eficácia como indutor nos vários sistemas de expressão, uma das grandes desvantagens do uso do IPTG consiste no fato de ser tóxico à maioria das células, de tal forma que, após 4-5 horas de indução, observa-se uma drástica diminuição do crescimento celular no meio de cultura. Assim, devido à sua toxicidade o IPTG limita a produção, em maior escala, de uma proteína de interesse. A descoberta de novos indutores, menos tóxicos e com a mesma eficácia de indução do IPTG, poderia, portanto, ser de grande utilidade quanto a produção quantitativa de uma determinada proteína.

## Resultados e Discussão

O trabalho envolveu a preparação de cinco análogos (Figura 1) do IPTG a partir da D(+)-galactose. A obtenção desses tiogalactopiranosídeos apresentou bons rendimentos e todas as estruturas foram elucidadas utilizando as técnicas analíticas de ressonância magnética de hidrogênio e carbono 13. Em seguida os derivados açúcares foram testados sua toxicidade (leitura DO 600-espectrofotometro Metrolab 1700 U V Vis) e capacidade de indução em

sistemas plasmidiais (*E. Coli* com plasmídio recombinante pQE 31-HBsAg) lac-operon regulados. A análise de indução foi realizada por eletroforese em gel de poliacrilamida/SDS. Verificou-se que a toxicidade entre os análogos GS1, GS2, GS3, GS4,GS5,GS6 e GS7 foi a mesma, não sendo fator limitante do processo de indução. Por outro lado, os análogos GS4, GS6 e GS7 não apresentaram poder de indução, sendo GS1, GS2, GS3, GS5 se mostraram indutores. Para interpretar o poder de indução desses análogos foram feito estudo de modelagem molecular utilizando para o experimento de superposição molecular o programa AUTODOCK 3.0<sup>2</sup>. Já as cargas foram determinadas utilizando métodos disponíveis no programa AUTODOCK 3.0. Para a macromolécula os hidrogênios polares foram adicionados e as cargas Kollman calculadas. Para os ligantes foram calculadas as cargas Gasteigner. Os grids de afinidade foram então gerados usando o programa auxiliar AUTOGRIDE.

Figura1. Análogos do IPTG



## Conclusões

Este trabalho resultou na obtenção e aplicação de novos carboidratos e permitiu, juntamente, com estudo de modelagem molecular aplicar conceitos de planejamento de substâncias. Os resultados geraram uma patente e tornaram promissores para busca de novos compostos bioativos.

## Agradecimentos

A FAPEMIG e ao professor Élio Hideo Baba.

<sup>1</sup> Tjaden J.,Schwoppe C., Mohmann T., Quick P.W.& Neuhaus H.E.J Biol.Chem. **1998**, 273, 9630-9636.

<sup>2</sup> Morris, G. M.; Goodsell, D. S.; Halliday, R. S.; Huey, R.; Hart, W. E.; Belew, R. K. and Olson, A.J. *Journal of Computational Chemistry*. **1998**, 19, 1639-1662.