

Identificação da cisteína do sítio ativo da enzima VTDCE

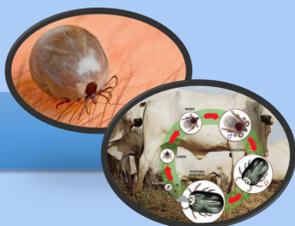
Patrick Comassetto Führ¹, Carlos Termignoni²

1 Bacharelado em Química, UFRGS
2 Centro de Biotecnologia, UFRGS



CB- Ciências Biológicas

INTRODUÇÃO



Rhipicephalus (Boophilus) microplus, carrapato dos bovinos, é responsável por grandes perdas econômicas para o setor pecuarista. Por esse motivo, há a necessidade de melhorar os métodos de controles empregados contra esse artrópode.



O uso de vacinas pode ser uma alternativa ao uso de acaricidas químicos. Entretanto, é necessário identificar e caracterizar, antígenos que tenham eficácia imunoprotetora

A cisteína endopeptidase degradadora de vitelina (VTDCE), enzima que participa da hidrólise de vitelina, principal fonte de energia e aminoácidos durante o período embrionário, confere certo grau de proteção imunológica aos bovinos contra *R. microplus*. (SEIXAS,2002)

OBJETIVO

Identificar o resíduo de cisteína que fornece o grupo sulfidril para do mecanismo de catálise.

METODOLOGIA 1ª Fase



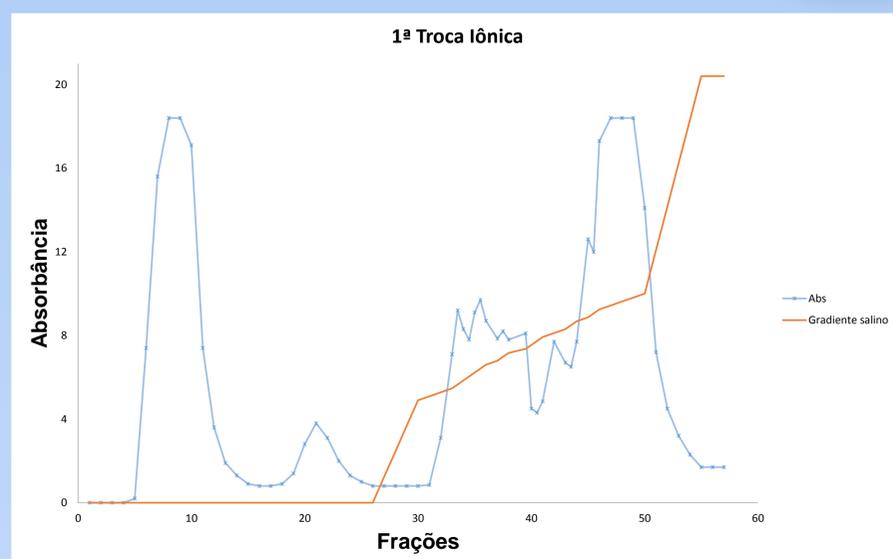
METODOLOGIA 2ª Fase



RESULTADO E DISCUSSÃO



1ª Fase



Cromatografia de troca iônica. A amostra foi aplicada em coluna 0.5 X 5.0 Mono Q HR 5/5 (GE Healthcare, Brasil), sendo esta previamente equilibrada com tampão fosfato de sódio 10 mM, pH 7,2 e eluída com um gradiente 0 – 0,8 M NaCl do mesmo sistema tamponante sob um fluxo de 0.5 mL/min. Frações de 1 mL foram coletadas. Nenhuma das frações apresentou atividade proteásica, possivelmente devido à vitelina ainda estar inibindo a atividade catalítica da enzima. Para prosseguir a purificação foram selecionadas as amostras que exibiam a coloração típica de vitelina apresentada por Seixas *et al.*, 2002 a,b.

CONCLUSÃO

A pesquisa se encontra em andamento e os resultados obtidos até então estão de acordo com os dados da literatura.

REFERÊNCIAS

- SEIXAS, A. ; HORN, F. ; TERMIGNONI,C.; . Purificação de uma cisteína endopeptidase de ovos do carrapato *Boophilus microplus* associada a vitelina. In: XIII Salão de Iniciação da UFRGS, 2002, Porto Alegre, RS. Livro de Resumos do XIII Salão de Iniciação da UFRGS, 2002a.
- TERMIGNONI,C.; SEIXAS, A. . Purification and Characterization of a cysteine endopeptidase from *Boophilus microplus* that degrades vitellin. In: XII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002, Rio de Janeiro. Anais do XII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002b.