

Sessão 20

Imunogenética - Imunologia Celular e Imunodiagnóstico

206

OBTENÇÃO DA PROTEÍNA RECOMBINANTE GLUTATIONA S-TRANSFERASE DE *Boophilus microplus* PARA CRISTALOGRAFIA E ENSAIO DE ATIVIDADE ENZIMÁTICA.

Alessandra L. Pelegrini¹; Itabajara S. Vaz^{1,2}, Jr.; Aoi Masuda¹ (Centro de Biotecnologia¹; Faculdade de Veterinária², UFRGS)

O carrapato *Boophilus microplus* é um ectoparasito presente em áreas tropicais e subtropicais entre os paralelos 32°N e 32°S, causador de grandes prejuízos econômicos devido à queda na produção de leite e carne, danos ao couro, além da transmissão de doenças como a Tristeza Parasitária Bovina. Atualmente, o controle do carrapato é feito com uso de acaricidas que, além do alto custo e risco de contaminação do ambiente, permite o aparecimento de populações de carrapatos resistentes. Glutathione S-transferases são um grupo de enzimas que apresentam um papel fundamental na detoxificação de toxinas endógenas e exógenas. Em contraste com os estudos sobre a resistência de insetos a inseticidas, em *B. microplus* existem poucos estudos sobre a caracterização dos genes responsáveis pela resistência aos diferentes princípios químicos. O exon ou o cDNA da GST de *B. microplus* foi clonado no vetor de expressão pET5b. A proteína recombinante produzida na cepa BL21 de *Escherichia coli* e purificada por cromatografia de afinidade usando a coluna de Glutathione Sepharose. A pureza e a concentração final da proteína recombinante foi determinada a partir de eletroforese em gel SDS-PAGE e espectrofotometria. Foram obtidas 10mg de proteína purificada para estudo de sua estrutura por cristalografia e também para caracterização da sua atividade enzimática utilizando como substratos Glutathione reduzida (GSH) e o cromógeno CDNB. Como resultado, a GST recombinante de *B. microplus* mostrou ter atividade enzimática. No momento estão sendo feitos testes das condições necessárias para a cristalização da GST. O estudo da atividade enzimática e da estrutura desta proteína através da cristalografia poderá ajudar a elucidar seu papel na resistência de *B. microplus* a acaricidas. (CNPq, PADCT, Fapergs e PRONEX).