



Evento	XX FEIRA DE INICIAÇÃO À INOVAÇÃO E AO DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO - FINOVA/2011
Ano	2011
Local	Porto Alegre - RS
Título	Purificação da urease de <i>Bradyrhizobium japonicum</i>
Autores	MARCELA PROENÇA BORBA MÔNICA DE MEDEIROS SILVA Joseph Carmine Polacco
Orientador	CELIA REGINA RIBEIRO DA SILVA CARLINI

Salão UFRGS 2011

Feira de Iniciação à Inovação e ao Desenvolvimento Tecnológico – FINOVA

Purificação da urease de *Bradyrhizobium japonicum*

Marcela Proença Borba, Mônica de Medeiros Silva, Joseph C. Polacco, Célia R. Carlini

Centro de Biotecnologia, Departamento de Biofísica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

E-mail: ceh.proenca@gmail.com

O vídeo iniciará com uma cientista entrando em um laboratório e nesse momento serão feitas as apresentações, do Centro de Biotecnologia da UFRGS e do Laboratório de Proteínas Tóxicas. A imagem será focada em uma cultura bacteriana em placa de Petri e essa cultura dará início às explicações sobre o trabalho. A bactéria em questão se chama *Bradyrhizobium japonicum*, uma bactéria do solo que forma nódulos nas raízes da soja para a fixação de nitrogênio. Essa bactéria produz uma enzima, chamada urease. Então, será apresentado todas as características da enzima: ureases são enzimas dependentes de níquel que catalisam a hidrólise de uréia em NH_3 e CO_2 , sendo sintetizadas por plantas, fungos e bactérias. Foi proposto que, em plantas, além de atuarem na reciclagem de nitrogênio, as ureases têm papel na germinação de sementes e na defesa contra patógenos. Em fungos e bactérias, as ureases atuam como um fator de patogenicidade ou virulência, contribuindo para a sobrevivência do patógeno, e também permitindo o uso de uréia como fonte de nitrogênio. Em plantas e fungos, as ureases consistem em trímeros ou hexâmeros formados por uma subunidade de 90 kDa, enquanto que as enzimas bacterianas são complexos com 2 ou 3 subunidades. Todas essas informações serão dadas em forma de animação. A imagem volta às colônias bacterianas para explicação do processo de purificação, o qual também será demonstrado com animações. O extrato bruto do *B. japonicum* passa por duas etapas de cromatografia de troca aniônica para obtenção da urease pura. A bactéria cresce em meio líquido extrato de levedura–manitol por 10 dias a 28°C , sob agitação de 125 rpm. Após lise por ultrassom e centrifugação, o extrato bruto de *B. japonicum* passa por duas etapas de cromatografia de troca aniônica para obtenção da urease semipurificada. A primeira etapa se dá na resina Q-Sepharose, com uso de um gradiente de eluição descontínuo de 150 a 500 mM de NaCl. Na segunda etapa, utiliza-se a resina Source 15-Q em gradiente contínuo de eluição, realizado em FPLC. A enzima então está purificada e pronta para os testes. O vídeo será finalizado com uma leve demonstração da utilidade do trabalho e com a cientista saindo do laboratório. Então serão apresentados os créditos finais.

No estante serão mostrados os nódulos nas raízes da soja que ocorrem devido à simbiose da planta com a bactéria. Serão expostas também algumas placas com as culturas bacterianas e a vidraria necessária para o processo de purificação.