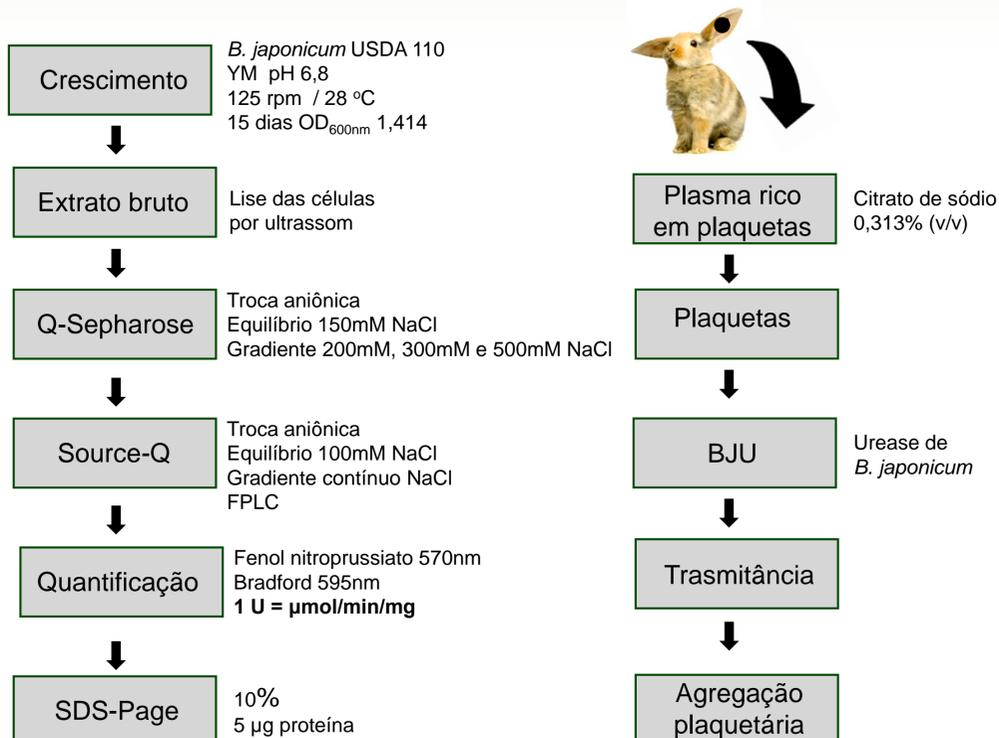


1. INTRODUÇÃO

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 trimeros ou hexâmeros formados por uma subunidade de 90 kDa, enquanto que as enzimas bacterianas são complexos com 2 ou 3 subunidades. A inserção de dois átomos de Ni no sítio ativo requer pelo menos três proteínas acessórias, UreG, UreF e UreH em bactérias, ou seus ortólogos em plantas e fungos. No solo, ureases são encontradas em microrganismos, raízes de plantas e ligadas a compostos orgânicos e inorgânicos. *Bradyrhizobium japonicum* é uma bactéria do solo que forma nódulos nas raízes da soja para a fixação de nitrogênio. Esta bactéria produz urease, e seu papel na sinalização, tanto para a planta de soja como para outros organismos na rizosfera, ainda não foi investigada.

O presente trabalho visa obter um protocolo de purificação e caracterizar a urease nativa de *Bradyrhizobium japonicum*.

2. MATERIAL E MÉTODOS



3. RESULTADOS

Purificação

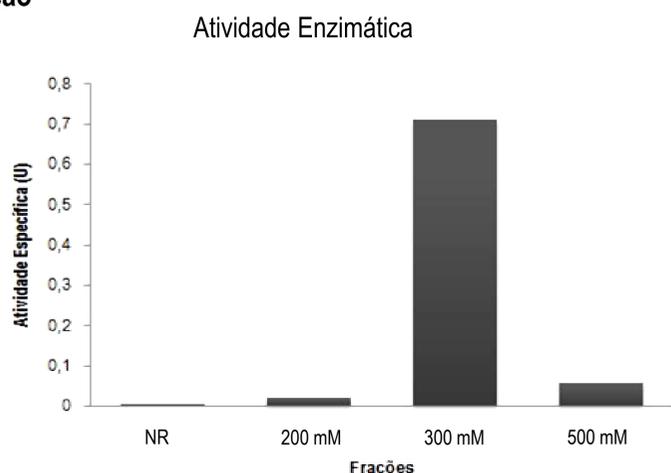


Figura 1: Atividade específica das frações eluídas da Q-Sepharose. A fração contendo proteínas eluídas com 300 mM de NaCl foi submetida a Source-Q.

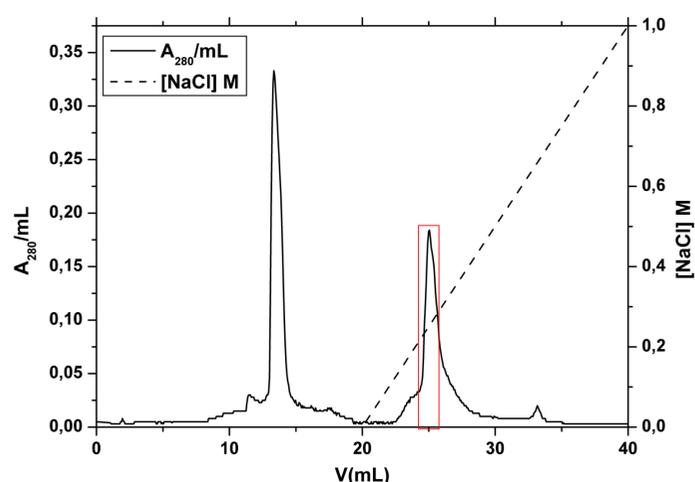


Figura 2: Atividade específica das frações eluídas da Source 15-Q. O retângulo vermelho compreende as frações com maior atividade específica.

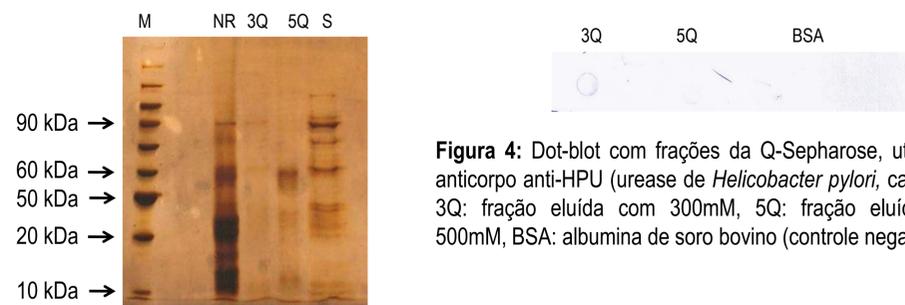


Figura 3: Gel de poliacrilamida com as frações com maior atividade. M: marcador de peso molecular, NR: não retido, 3Q: fração eluída com 300mM na Q-Sepharose, 5Q: fração eluída com 500mM na Q-sepharose, S: fração eluída na Source-Q.

Figura 4: Dot-blot com frações da Q-Sepharose, utilizando anticorpo anti-HPU (urease de *Helicobacter pylori*, cadeia β). 3Q: fração eluída com 300mM, 5Q: fração eluída com 500mM, BSA: albumina de soro bovino (controle negativo).

Agregação Plaquetária

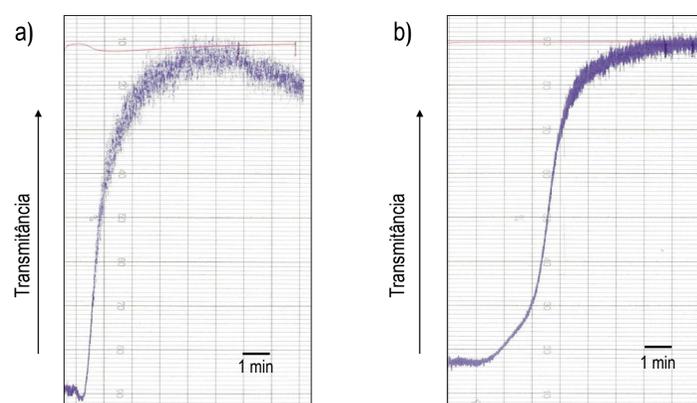


Figura 5: Agregação plaquetária induzida por (a) colágeno (controle positivo), e por (b) urease de *B. japonicum*.

Tabela 1: Tabela de purificação.

Frações	Proteína (mg/mL)	Proteína total	Atividade Específica (U)	Rendimento %	Índice de Purificação
Extrato bruto	22,4	336	0,005	100	1
Q-Sepharose	0,067	2,013	0,708	0,6	141,8
Source-Q	0,103	0,103	3,658	0,03	731

4. CONCLUSÃO

O protocolo de purificação apresentado resultou em um índice de purificação de 731X com 0,03% de recuperação da atividade enzimática.

5. PERSPECTIVAS

Aprimorar o protocolo de purificação para posterior caracterização físico-química e cinética da urease de *B. japonicum*.

Agradecimentos:

• William Frank e Gary Stacey – University of Missouri

Apoio financeiro: CNPq, CAPES, FINEP